

Université de Montréal

**Étude du sommeil et de l'immunocompétence suite à un
infarctus aigu du myocarde chez le rat**

par

Thierno Madjou Bah

Sciences biomédicales

Médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures et postdoctorales

en vue de l'obtention du grade de Ph.D.

en Sciences biomédicales

option Sciences psychiatriques

Décembre, 2010

© Thierno Madjou Bah, 2010

Université de Montréal

Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée :

Étude du sommeil et de l'immunocompétence suite à un infarctus aigu du myocarde chez le
rat

présentée par :

Thierno Madjou Bah

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Valérie Mongrain, Ph.D., président-rapporteur

Roger Godbout, Ph.D., directeur de recherche

Guy Rousseau, Ph.D., co-directeur

François Lespérance, MD, membre du jury

Joseph Rochford, Ph.D., examinateur externe

Réjean Couture, Ph.D., représentant du doyen de la FES

Résumé

Plusieurs études ont montré que la perturbation des fonctions du système cardiovasculaire constitue un risque majeur de développement du trouble dépressif chez l'homme. De plus, suite à un infarctus du myocarde, 15-30% de la population développe la dépression majeure dans les 6 à 8 mois suivant cet événement suggérant un lien entre les maladies cardiovasculaires et la dépression. Cette dépression est caractérisée par une série de troubles du sommeil. Approximativement 80% des patients hospitalisés et 70% des malades en consultation externe avec une dépression majeure rapportent des difficultés d'initiation et de maintien du sommeil. Les travaux effectués dans les laboratoires de Roger Godbout et Guy Rousseau ont montré que suite à un infarctus aigu du myocarde chez le rat, on observait de l'anhédonie, de la détresse comportementale et de la mort cellulaire par apoptose dans le système limbique. Cette apoptose suivait un décours spatial et temporel et avait été prévenue par l'administration d'antidépresseurs. De plus, le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α) serait un composant majeur dans l'activation de la voie extrinsèque conduisant à la mort cellulaire observée dans le système limbique.

Les résultats de cette thèse montrent que les rats ayant subi un infarctus du myocarde (IM) présentaient à la fois des troubles du sommeil, de l'anhédonie et de la détresse comportementale comparables à ceux des autres modèles animaux de dépression. Les symptômes de dépression ont été prévenus par l'administration à la fois d'un antidépresseur (escitalopram) et d'un inhibiteur de la synthèse des cytokines proinflammatoires (pentoxifylline). Les troubles du sommeil et l'apoptose avaient aussi été prévenus par l'administration respective de l'escitalopram et de la pentoxifylline. De plus, les animaux ayant subi un IM présentaient une diminution du nombre de cellules cholinergiques dans le générateur du sommeil paradoxal expliquant en partie la réduction de la durée du sommeil paradoxal observée dans cette thèse.

Les animaux ayant subi un IM montraient une augmentation systémique du TNF- α , l'interleukine-1 (IL-1 β), et la prostaglandine E₂ (PGE₂). Le traitement par l'escitalopram bloquait l'augmentation des niveaux plasmatiques du TNF- α , de l'IL-1 β , et de la PGE₂ sans affecter celui de la corticostérone et de l'IL-6. Finalement, pour la première fois, nous avons mis évidence qu'un traitement autre qu'un antidépresseur (pentoxifylline) pouvait réduire le comportement dépressif dans la dépression post-infarctus du myocarde lorsqu'il est administré quelques minutes avant la période ischémique.

Il apparaît donc important d'intervenir rapidement chez les patients à la suite d'un IM et ce dès les premiers jours et avant même l'apparition des premiers signes d'insomnie et de dépression. Une combinaison de traitements pharmacologique et comportemental serait une voie intéressante à considérer dans la prise en charge de ces patients.

Mots-clés : Sommeil, Cytokines, Sommeil paradoxal, Infarctus du myocarde, Dépression, Pentoxifylline, Escitalopram, Insomnie, Rat.

Abstract

Several studies have shown that disruption of the cardiovascular system functions is a major risk of developing depressive disorder in humans. In addition, following a myocardial infarction, 15-30% of the population develops major depression within 6 to 8 months after this event suggesting a link between cardiovascular disease and depression. The depression is characterized by a series of symptoms including sleep disorders. Approximately 80% of hospitalized patients and 70% of patients with major depression reported difficulties initiating and maintaining sleep. Work in the laboratories of Roger Godbout and Guy Rousseau showed that following an acute myocardial infarction, the rats displayed anhedonia, behavioral despair and cell death by apoptosis in the limbic system. This apoptosis follows a spatial and temporal time course and could be prevented by administration of antidepressants. Moreover, tumor necrosis factor alpha (TNF- α) is a major component in the activation of the extrinsic pathway leading to cell death observed in the limbic system.

The results of this thesis show that acute myocardial infarction (MI) is accompanied, within 2 weeks, by paradoxical sleep specific insomnia. Moreover, the myocardial infarcted rats have shown a decrease in the number of cholinergic neurons in the paradoxical sleep generator in the central nervous system. The post MI syndrome is accompanied by increase systemic levels of TNF- α , interleukin-1 (IL-1 β), prostaglandin E₂ and circulating corticosterone. The SSRI antidepressant escitalopram blocks the post MI behavioural syndrome without affecting sleep while it decreased TNF- α , IL-1 β , and PGE₂ levels but not corticosterone nor IL-6. Finally, the administration of pentoxifylline, a non selective cytokine synthesis inhibitor before the ischemic period attenuates the post-MI depressive behavior. This is the first evidence that a non-antidepressant may reduce the depressive behavior in a post-MI behavioural syndrome.

Therefore, it appears important to intervene quickly in patients following a MI and in the earliest days and even before the first signs of insomnia and depression. A combination of pharmacological and behavioral treatments would be an interesting way in the management of these patients.

Keywords : Sleep, Cytokines, Paradoxical sleep, Myocardial infarction, Depression, Pentoxifylline, Escitalopram, Insomnia, Rat.

Table des matières

Chapitre 1 : Le cœur.....	3
1.1. Généralités.....	3
1.2. Ischémie	4
1.3. Athérosclérose.....	4
1.3.1. Formation de la plaque.....	5
1.4. Infarctus du myocarde.....	7
Changements réversibles.....	7
Changements irréversibles	8
1.6. Réperfusion et lésions de reperfusion	10
1.8. Apoptose	14
1.9. Apoptose et survie cellulaire induite par le TNF- α	18
Chapitre 2 : Le syndrome post-infarctus du myocarde	20
2.1. Dépression.....	21
2.1.1. Caractéristiques du sommeil dans la dépression.....	22
2.1.1. Éveil	22
2.1.2. Les stades du sommeil	23
2.2. Relation entre la dépression et les maladies cardiovasculaires.....	29
2.3.1. Variabilité cardiaque et dysfonctionnement du système nerveux autonome	31
2.3.2. Dysfonctionnement des baroréflexes	33
2.3.3. Repolarisation ventriculaire	33
2.3.4. Hémococoncentration	34
2.3.5. Dysfonction endothéliale	35
2.3.6. Activation plaquettaire	36
2.3.7. Dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalien.....	37
2.3.8. Altération dans la réponse immunitaire – Inflammation.....	37
Chapitre 3 : Les cytokines.....	39
3.1. Classification et dénomination des cytokines	40

3.2. Source des cytokines	43
3.3. Triade : Infarctus du myocarde - Cytokines - Dépression	44
3.3.1. Entrée via les organes circumventriculaires.....	48
3.3.2. Entrée via un mécanisme de transport actif	49
3.3.3. Entrée via le nerf vague.....	49
3.3.4. Production des cytokines par les cellules du SNC	50
3.4. Cytokines, dépression et sommeil.....	50
Chapitre 4 : Objectifs et hypothèses.....	52
Hypothèses	52
Hypothèse principale.....	52
Chapitre 5 : Méthodologie	55
Participation et contribution des auteurs	56
4.1. Préface de la première étude	57
Paradoxical Sleep Insomnia and Decreased Cholinergic Neurons After Post-Myocardial Infarction in the Rat	58
Abstract	59
Introduction	60
Methods	60
Experiment 1: sleep recording	60
Experiment 2: quantification of brainstem cholinergic neurons	64
Results	67
1. Infarct size	67
2. Sleep	67
3. Immunohistochemistry	68
Discussion	68
Study limitations and future studies	70
Acknowledgements	72
References	73

Figure legends	80
Figures	81
4.2. Préface de la deuxième étude	85
Escitalopram reduces circulating pro-inflammatory cytokines and improves depressive behavior without affecting sleep in a rat model of post-cardiac infarct depression.....	86
Abstract	87
Introduction	88
Methods and Materials	89
Experimental groups	89
In vivo surgical procedure and heart tissue preparation.....	89
Treatment	90
Measures of infarct size and area at risk	90
Behavioral measures	91
Biochemical measures.....	94
Statistical analyses	94
Results	95
1. Myocardial infarct size and area at risk	95
2. Forced Swim Test	95
3. Sucrose Preference Test	95
4. Sleep	96
5. Cytokines plasma levels.....	96
6. PGE ₂ and corticosterone plasma levels.....	96
Discussion	97
Conclusion.....	100
Strengths and Limitations of the Study.....	101
Acknowledgements	101
Financial disclosures	101
Table/Figure Legends.....	102

References	106
4.3. Préface de la troisième étude.....	120
Pentoxifylline Exerts an Antidepressant-like Effect Following Acute Myocardial Infarction in the Rat	121
Abstract	122
Introduction	123
Methods	124
Animals	124
Surgical procedures	124
Measurements of area at risk and infarct size	125
Behavioral measures	125
General conditions of animals after MI	126
Plasmatic concentration of IL-1 β	127
Statistical analyses	127
Results	127
Infarct size	127
Behavioral measures	127
Plasmatic concentration of IL-1 β	128
Discussion	128
Limitation	132
Conclusion.....	132
Acknowledgements	133
Figures and Legends	134
References	138
Préface de la discussion générale	144
Discussion	145
Signification scientifique des résultats de la thèse	155
Limites et perspectives	158

Conclusion.....	160
Bibliographie.....	161

Liste des abréviations

ACTH: Adrénocorticotropine hormone	EOG: Électrooculogramme
ACV : Accident cérébro-vasculaire	FADD: Fas associated death domain
ADN: Acide désoxyribonucléique	GM-CSF: Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
AIF: Apoptosis inducing factor	HHS: hypothalamo-hypophysaire surrénalien
AP 1: Activating protein	HPA: Hypothalamo-hypophysaire surrénalien
APAF-1: Apoptosis proteases activating factor-1	i.m: Intra musculaire
ARN: Acide ribonucléique	i.v: Intra veineux
ARNm: Acide ribonucléique messenger	IAP: Inhibitors of apoptosis proteins
ATP: Adénosine triphosphate	ICAMs: Inter cellular adhesion molecule soluble
Bax: Bcl-2-associated X protein	IDO : Indoleamine 2,3 dioxygénase
Bcl-2: B-cell lymphoma-2	IFN: Interferon
BDNF: Brain derived neurotrophic factor	IL: Interleukine
CA3: Corne d'Ammon 3	IL-1ra : IL-1-receptor antagonist
ChAT: Choline acetyltransferase	IM: Infarctus du myocarde
CTRL: Control	ISRS: Inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine
CREB: cAMP-response element binding protein	kDa: Kilo Dalton
CRF: Corticotropin-releasing factor	LDT: Laterodorsal tegmentum
CRH: Cortico-trophin releasing hormone	LPS: lipopolysaccharide
CRP : protéine C réactive	MDD : Major depressive disorder
CSF : fluide cérébrospinal	MI: Myocardial infarction
DD: Death domain	NA : Noradrénaline
DED: Death effector domain	NFS : Noyau du faisceau solitaire
DISC: Death inducing signaling complex	NF-κB : Nuclear facteur Kappa B
EEG: Electroencéphalogramme	NGF: Nerve growth factor
ECG: Électrocardiogramme	NK : Natural killer
ELISA: Enzyme linked immunoabsorbant assay	

NO: Oxyde nitrique

NREM: Non rapid eye movement

OCVT : Organes circumventriculaires

PDGF: Platelet derived growth factor

PF : Platelet factor

PGE₂: Prostaglandine E₂

PKA : Protéine kinase dépendante de l'AMPc

PLC: Phospholipase

PPT: Pedunculo pontine tegmentum

PTPm : Pore de transition de perméabilité mitochondrial

REM: Rapid eye movement

RIA: radio-immunoassay

RLO: radicaux libres d'oxygène

SL: Sommeil lent

SOL: Sommeil à ondes lentes

SLP: Sommeil lent profond

SP: Sommeil paradoxal

SWS: Slow wave sleep

TCA : Antidépresseurs tricycliques

TGF- β : Transforming Growth Factor- β

TNF: Tumor Necrosis Factor

TRAF: TNF receptor associated factor

TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nickend labelling

Liste des tableaux

Article 1

Table 1: Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) in 24-h recording time and light period 2 weeks after MI (n=8/group).

Article 2

Table 1. Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) for 24 hours of recording, with and without MI, with and without escitalopram (n=6/group). SWS-1, light Slow wave Sleep; SWS-2, deep Slow wave Sleep; PS, Paradoxical Sleep.

Table 2. Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) during the light phase, with and without MI, with and without escitalopram (n=6/group). SWS-1, light Slow wave Sleep; SWS-2, deep Slow wave Sleep; PS, Paradoxical Sleep.

Liste des figures

Thèse

Figure 1: Processus de formation de la plaque dans l'athérosclérose. D'après Tabas, 2010.

Figure 2: Voies intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose. D'après Rupinder et coll., 2007.

Figure 3: Schéma intégratif des stades de sommeil et de quelques paramètres physiologiques au cours du sommeil. D'après Pace-Schott et Hobson 2002.

Figure 4: Modèle révisé des interactions réciproques dans l'alternance du sommeil avec et sans mouvement oculaires rapides (REM-NREM). D'après Pace-Schott et Hobson 2002.

Figure 5: Schéma hypothétique des altérations physiopathologiques associées à la dépression et qui peuvent contribuer à la vulnérabilité des maladies cardiovasculaires. D'après Musselman et coll., 1998.

Figure 6: Schéma intégratif des interactions système immunitaire et le cerveau. D'après Raison et coll., 2006.

Article 1

Figure 1. Stereotaxic coordinates based on The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates by Paxinos and Watson¹¹. 1A and 1B: Adapted figures respectively showing the beginning and end of the PPT nucleus and LDT nucleus in the brainstem.

Figure 2. Number of ChAT-positive neurons in myocardial-infarcted (MI) rats and sham controls (CTRL) in the left + right PPT and LDT areas. There were no differences between the left and right sides of the brainstem. * $p < 0.05$.

Figure 3. Examples of ChAT-positive neurons in the left brainstem of a MI and a sham rat. **3A, 3B:** left PPT. **3C, 3D:** left LDT. There were no differences between the left and right sides of the brainstem.

Article 2

Table 1. Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) for 24 hours of recording, with and without MI, with and without escitalopram (n=6/group). SWS-1, light Slow wave Sleep; SWS-2, deep Slow wave Sleep; PS, Paradoxical Sleep.

Table 2. Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) during the light phase, with and without MI, with and without escitalopram (n=6/group). SWS-1, light Slow wave Sleep; SWS-2, deep Slow wave Sleep; PS, Paradoxical Sleep.

Figure 1. Myocardial infarct size (I), expressed as a percentage of the area at risk (AR), shows no difference between groups. AR, expressed as a percentage of the left ventricle (LV) is similar between groups. n = 9-10 per group.

Figure 2. Performance of the rats in the Forced swim test for the 4 different groups. Escape time was similar between groups whereas MI rats show more immobility and less Swimming than the other groups. n = 6-7 per group. * indicates a significant difference between MI groups.; $p < 0.05$.

Figure 3. Sucrose Preference Test (calculated over 5 days). **A)** Total liquid intake. No significant difference was observed between groups. **B)** Percent of sucrose intake. * indicates a significant difference between MI groups; $p < 0.05$. n = 6-7 per group.

Figure 4. **A)** Circulating concentration of pro-inflammatory cytokines in the different groups (n = 5 -10 per group). **B)** Main effect of Treatment on plasmatic concentrations of

IL-1 β . **C)** Main effects of MI and **D)** Treatment on plasmatic concentrations of TNF- α . *p < 0.05 between groups.

Figure 5. **A)** Circulating concentration of PGE2 in the different groups (n = 9-10 per group). **B)** Main effect of MI and **C)** Treatment on plasmatic concentrations of PGE2 *p < 0.05 between groups.

Figure 6. **A)** Circulating concentration of corticosterone in the different groups (n = 6-7 per group). **B)** Main effect of MI on plasmatic concentrations of corticosterone. *p < 0.05 between groups.

Article 3

Figure 1. The myocardial infarct size (I) expressed as a percentage of the area at risk (AR) or left ventricle (LV) shows no difference between groups. The area at risk (AR) expressed as a percentage of the left ventricle (LV) is similar between groups (n = 8-9 per group).

Figure 2. This figure illustrates the performance of the rats in the Forced swim test for the 4 different groups. Escape time was similar between groups whereas MI rats show more immobility and less Swimming than the other groups (n = 11-12 per group, *p < 0.05).

Figure 3. **Left)** Percent of water intake on 5 days in the Sucrose Preference Test (n = 6-7 per group. *p < 0.05); **Right)** Total liquid intake in 5 days for the different groups. No significant difference was observed.

*À mon très cher oncle Abdoulaye Bah et à
mes grand-mères Mariama Dalanda Bah et
Fatoumata Binta Bah.*

*Que vos âmes reposent en paix et que Dieu
vous accorde sa grâce, sa miséricorde et son
paradis éternel. Amine!*

Remerciements

Je voudrais exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude à mon directeur de thèse, le Dr Roger Godbout, professeur titulaire au département de psychiatrie de l'Université de Montréal, pour m'avoir accepté dans son laboratoire, sa confiance, son aide indéfectible depuis notre rencontre, son savoir partagé, sa disponibilité, son encadrement et sa générosité inestimable. Merci pour tout ROGER!

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance et mes vifs remerciements à mon codirecteur, le Dr Guy Rousseau, professeur agrégé au département de pharmacologie de l'Université de Montréal pour avoir accepté de codiriger cette thèse, mais aussi pour son contact chaleureux, ses connaissances scientifiques, son encadrement, sa disponibilité et son aide appréciable dans la réalisation de ce travail. Merci "BOSS"!

À vous deux, permettez-moi de vous dire que ce fut un honneur et une chance extraordinaire d'avoir été sous votre direction.

Mes vifs remerciements vont également à l'endroit de Dr François Lespérance et Dr Réjean Couture pour avoir bien accepté d'être mes parrains de thèse ainsi que pour leur encadrement et leur suivi régulier tout au long de ces années.

J'aimerais également remercier les membres du Jury qui ont bien voulu consacrer leur précieux temps pour évaluer cette thèse ainsi que pour leurs critiques et suggestions pertinentes.

Ma gratitude va à Dr Boubacar Pasto Wann que je tiens à remercier très chaleureusement pour m'avoir transmis ses connaissances, son savoir-faire, ses conseils de FRÈRE et son soutien inestimable depuis notre première rencontre.

J'adresse également mes vifs remerciements à Dr Sévan Kaloustian pour son aide appréciable, son amitié sincère, les discussions et échanges très riches que nous avons eus tout au long des années passées ensemble au centre de Biomédecine. Merci Dr Kaloustian!

Je tiens aussi à remercier très chaleureusement tous mes collègues du laboratoire, coauteurs et collaborateurs en particulier Dr Mohammed Benderdour, Dr François Laplante, Stéphanie Anne-Girard, Laura Lada-Moldovan, Dr Matthieu Boucher, Marc-André Déry et Isabelle Rondeau. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous. Une marque d'attention spéciale à l'endroit de Dr Benderdour pour les échanges fructueux ainsi que les encouragements dans l'accomplissement de cette thèse. Mes pensées et remerciements vont aussi à l'endroit de Marc-André Gingras, Tommy Chevrette, Dr Félix-Antoine Louisignan, Mrie-Josée Dubuc, Dre Sabine Duplan, Andréane Lambert, Sophie Tessier, Annie-Claude Rochette, Dre Véronique Brazzini-Poisson, Dre Mélanie Labrosse, Dre Cathy Léveillé, Martin Pelletier, Dre Anne-Karine Gauthier et Christophe Huynh, du laboratoire du sommeil de l'hôpital Rivière-des-Prairies.

Mes sincères remerciements à l'endroit du Dre Nathalie Le Marec pour sa simplicité, sa grande générosité, la transmission de ses connaissances, ses conseils, son aide appréciable et de m'avoir donné l'opportunité de faire partie de son équipe de recherche en tant que stagiaire, employé, puis étudiant gradué. De plus, je te remercie de m'avoir donné l'opportunité d'intervenir dans tes différentes charges de cours à l'Université d'Ottawa. Mille mercis Nathalie!

Ma plus vive reconnaissance à des personnes bien spéciales sans qui, il m'aurait été difficile de mener à bien ma thèse. Il s'agit de Pierre Fortier, Caroline Bouchard et Louis Chiocchio du service technique de l'animalerie du Centre de Biomédecine de l'hôpital Sacré-Cœur et d'Élyse Chevrier du laboratoire du sommeil de l'hôpital Rivière-des-Prairies. Merci infiniment pour votre appréciable aide, votre assistance technique et votre présence durant toutes ces années. Vous n'avez jamais hésité un seul instant à répondre à

mes appels de détresse abandonnant même parfois et à plusieurs reprises votre dîner. Qu'aurais-je fait sans vous? Du fond du cœur, mille mercis.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à tout le personnel du centre de recherche pour leur accueil, leur soutien et leur collaboration depuis mon arrivée au centre en 2001 en particulier à Diane Abastado, Diane Beauchamps, Gaétan Trembley et Michel Vermulen.

J'adresse un merci particulier à mon père, à ma mère et à mes oncles pour leur appui et leurs encouragements indéfectibles tout au long de mes études. Sans vous, rien de tout cela n'aurait été possible.

Enfin, j'aimerais remercier vivement mon épouse, Housseynatou Souaré, pour son amour, sa confiance, sa présence chaleureuse et son soutien inestimable durant ces cinq pénibles dernières années. Sans toi, il m'aurait été difficile d'y arriver. Merci pour tout ma chérie. J'aimerais aussi remercier mes enfants Mariama Dalanda et Thierno Saïdou qui, bien qu'enfants n'ont cessé de me soutenir jour après jour de par leur gaieté et leur joie de vivre après des journées et des nuits bien chargées.

Je ne saurais terminer cette longue liste de remerciements sans remercier le fonds de recherche en santé du Québec (FRSQ), la Fondation J.A. DeSève de l'hôpital du Sacré-Cœur de Montréal pour m'avoir octroyé chacun une bourse de doctorat ainsi que la faculté des études supérieures de l'Université de Montréal pour m'avoir octroyé deux bourses d'excellence et une bourse de rédaction pour ma thèse. Je remercie également le conseil en recherche et sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) pour m'avoir octroyé plusieurs bourses de laboratoire sur les fonds de mon directeur de recherche.

Enfin, que soient ici remerciés, tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de cette présente thèse et que je n'aurais pas eu le temps ou que j'aurais omis de remercier.

Introduction

À la suite d'un infarctus du myocarde, environ 15 à 30 % des patients développent une dépression majeure dans les mois suivant cet événement cardiaque. De nos jours, plusieurs évidences établissent un lien entre la dépression et les maladies cardiovasculaires. Les patients déprimés ont deux fois plus de risque d'avoir un événement cardiaque que les patients non déprimés dans les 12 mois suivant un diagnostic de maladie coronarienne (Carney et coll., 1988) et ont significativement plus de probabilité d'en mourir dans les quelques années suivant le diagnostic (Barefoot et coll., 1996). Des études ont montré que la dépression est, non seulement, un facteur de risque considérable de la mortalité ou de la morbidité cardiaque (Carney et Freedland; 2003) mais aussi qu'elle augmente le risque spécifique de mortalité après un infarctus aigu du myocarde (Bush et coll., 2001; Frasure-Smith et coll., 1995). Or, la dépression est caractérisée par une série de troubles du sommeil qui se présente sous forme de difficultés d'initiation ou de maintien du sommeil et d'un réveil matinal précoce (Ohayon et Shapiro, 2000). Si la relation entre la dépression, le sommeil et les événements cardiaques est bien établie, par contre, les mécanismes permettant de comprendre cette relation restent encore incertains (Carney et coll., 2005). Toutefois, plusieurs facteurs biologiques et comportementaux associés à la dépression ont été suggérés comme mécanismes possibles (Carney et coll., 2007; Whooley, 2006; Bonnet et coll., 2005) pouvant expliquer le lien bidirectionnel entre la dépression et les maladies cardiovasculaires.

Plusieurs études ont également suggéré que la dépression est associée avec une dérégulation des médiateurs du système immunitaire (Maes et coll., 1993; Sluzewska et coll., 1996) et que la dérégulation de ce système précède l'établissement de la dépression (Sakic et coll., 1996; Yirmiya, 1996; Pollak et coll., 2000). L'augmentation de la concentration plasmatique des cytokines proinflammatoires chez les patients déprimés est corrélée avec la sévérité des troubles psychiatriques et l'hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalien (Maes, 1999) et constituent une piste intéressante à investiguer dans la compréhension du lien entre les maladies psychiatriques comme la dépression et les maladies cardiovasculaires comme l'infarctus du myocarde.

De tout ce qui précède, il découle que les cytokines se trouvent au carrefour de la problématique physiopathologique de la dépression post-infarctus du myocarde. Cette thèse veut améliorer la compréhension de la physiopathologie de la dépression post-infarctus en trois études.

Étude 1 : caractériser l'architecture du sommeil après un IM dans notre modèle animal de dépression post-IM.

Étude 2 : investiguer si un traitement antidépresseur (inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine) comme l'escitalopram renverserait les symptômes dépressifs (la détresse comportementale et l'anhédonie) observés dans les études de Wann et collaborateurs (2007, 2009), les troubles du sommeil observés dans l'étude 1 et enfin le niveau plasmatique des cytokines proinflammatoires, la PGE_2 et la corticostérone.

Étude 3 : étudier l'effet du traitement à la pentoxifylline (inhibiteur non sélectif des cytokines proinflammatoires) sur le syndrome comportemental dépressif post-infarctus dans notre modèle animal.

Chapitre 1 : Le cœur

1.1. Généralités

Le cœur est un muscle ayant la forme d'une pyramide triangulaire. Sa pointe est orientée vers le bas, vers la gauche et vers l'arrière. Il est contenu dans le péricarde fibreux et il est constitué de quatre cavités : les oreillettes droite et gauche et les ventricules droit et gauche. Le ventricule gauche est plus épais et a une masse ventriculaire plus importante que le ventricule droit, expliquant de plus grandes performances ventriculaires gauches. Le tissu musculaire du cœur possède sa propre circulation artérielle et veineuse systémique. Les artères coronaires droite et gauche sont situées sur la surface épocardique du cœur prenant naissance sur l'aorte thoracique ascendante. Le tronc commun de l'artère coronaire gauche se divise en l'artère interventriculaire antérieure et l'artère circonflexe permettant la vascularisation du ventricule gauche. Ainsi, l'épicaire reçoit plus de sang que l'endocarde. C'est pourquoi, en cas de diminution de la perfusion coronaire (dans le cas du syndrome coronarien aigu sans sus-décalage du segment ST par exemple), l'endocarde est plus souvent touché et présente plus fréquemment des IM.

Les maladies cardiovasculaires sont la principale cause de morbidité et de mortalité dans les pays occidentaux (Luc, 2004) et constituent un véritable problème de santé publique. Selon le rapport mis à jour de l'*American Heart Association*, 2009, chaque année aux États-Unis États, environ 1,36 million d'hospitalisations sont nécessaires suite aux syndromes coronariens aigus dont 0,81 million sont pour l'IM et les autres sont pour l'angine instable (Lloyd-Jones et coll., 2009). Le terme de syndrome coronarien aigu réfère à tout groupe de symptômes cliniques compatibles avec une ischémie myocardique aiguë et couvre le spectre des conditions cliniques allant de l'angine de poitrine instable à l'IM avec ou sans élévation du segment ST. L'angine instable et l'infarctus du myocarde sans élévation du segment ST sont des conditions étroitement liées dont les origines physiopathologiques et cliniques sont similaires, mais différentes dans leur sévérité (Kumar et Cannon, 2009).

1.2. Ischémie

L'ischémie est définie comme étant l'insuffisance de l'apport sanguin artériel dans le muscle cardiaque. C'est un processus dynamique qui dépend à la fois de la durée et de la sévérité de l'ischémie. Elle est généralement causée par l'obstruction des artères coronaires pouvant conduire soit à une angine de poitrine ou à l'IM. Cette situation engendre des dommages cellulaires importants qui peuvent être réversibles ou irréversibles selon la durée de l'ischémie. Mais quelle serait donc l'origine de cette ischémie?

La principale cause de la survenue d'une cardiopathie ischémique est l'athérosclérose coronaire dont l'évidence la plus convaincante est la rupture de la plaque d'athérosclérose qui obstrue l'artère et réduit l'apport sanguin artériel du cœur, ce qui peut augmenter le risque de l'IM.

1.3. Athérosclérose

L'athérosclérose est une pathologie qui sous-tend plusieurs grands événements indésirables vasculaires, dont les maladies coronariennes, les accidents vasculaires cérébraux et la maladie artérielle périphérique, responsable de la plupart de la morbidité et la mortalité cardiovasculaire dans le monde occidental aujourd'hui (Tedgui et Mallat, 2006). Elle est définie depuis 1957 par l'Organisation mondiale de la santé comme « une association variable de remaniements de l'intima des artères consistant en une accumulation focale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissus fibreux et de dépôts calciques». Plus simplement, il s'agit d'une affection multifactorielle qui envahit l'intima et la partie voisine de la média des artères de gros et moyen calibre, combinant deux types de lésions, l'athérome et la sclérose, rétrécissant progressivement la lumière du vaisseau et pouvant se compliquer de thrombose, ce qui provoque l'ischémie ou

la nécrose du tissu d'aval (Jan, 2005). La pathogénie de l'athérosclérose n'est donc pas univoque et la paroi des artères n'est pas assimilable à un conduit inerte. C'est une zone où transitent des molécules de tailles diverses provenant du sang. De plus, la paroi artérielle est capable de synthétiser ou de dégrader des éléments qui se révéleront constitutifs de la plaque athéroscléreuse. Elle «vit» et possède son propre métabolisme (Jan, 2005). L'athérosclérose coronaire est liée à la présence de nombreux facteurs de risque tels que le tabagisme, l'hypercholestérolémie, les antécédents familiaux, l'hypertension et le diabète (Mukherjee et Cho, 2009). Les mécanismes initiateurs, qu'ils soient d'ordre mécanique, physique, chimique, pharmacologique ou immunologique, jouent un rôle important.

1.3.1. Formation de la plaque

Selon Cottart et coll. (2009), la description anatomopathologique actuelle de l'athérosclérose retient trois stades évolutifs : la strie lipidique, la lésion fibrolipidique et la lésion compliquée. Une classification beaucoup plus détaillée a été proposée par Stary et coll. (1995) et retenue par "*l'American Heart Association (AHA)*". On distingue alors plusieurs événements physiopathologiques du processus athérosclérotique, successifs ou concomitants (Peynet et coll., 2005) :

- la rétention de lipoprotéines athérogènes dans l'intima, après leur passage transendothélial et leur fixation à des constituants de la matrice extracellulaire intima; l'activation de l'endothélium artériel et le dysfonctionnement cellulaire qui en résulte contribuent à ce processus;
- la modification physicochimique des lipoprotéines retenues sous l'influence d'un stress oxydatif local exacerbé;

- le recrutement des monocytes circulants sous l'influence de facteurs chimiotactiques et grâce à l'expression accrue de molécules d'adhésions endothéliales, et la transformation ultérieure des cellules recrutées en macrophages puis en cellules spumeuses;
- la formation de la chape fibromusculaire constituée principalement de cellules musculaires qui ont migré à partir de la média et ont proliféré dans l'intima, imposant un remaniement de la matrice extracellulaire intimal en faveur de sa dégradation;
- la calcification de la plaque par la constitution et le dépôt de composés calciques au niveau intimal et médial, rendant celle-ci friable et apte à la rupture sous l'influence de facteurs hémodynamiques mécaniques.

L'aboutissement critique de ces lésions athéromateuses est une sténose artérielle ou une rupture de la plaque lipidique calcifiée conduisant à une ischémie des territoires situés en aval de la lésion (Figure 1).

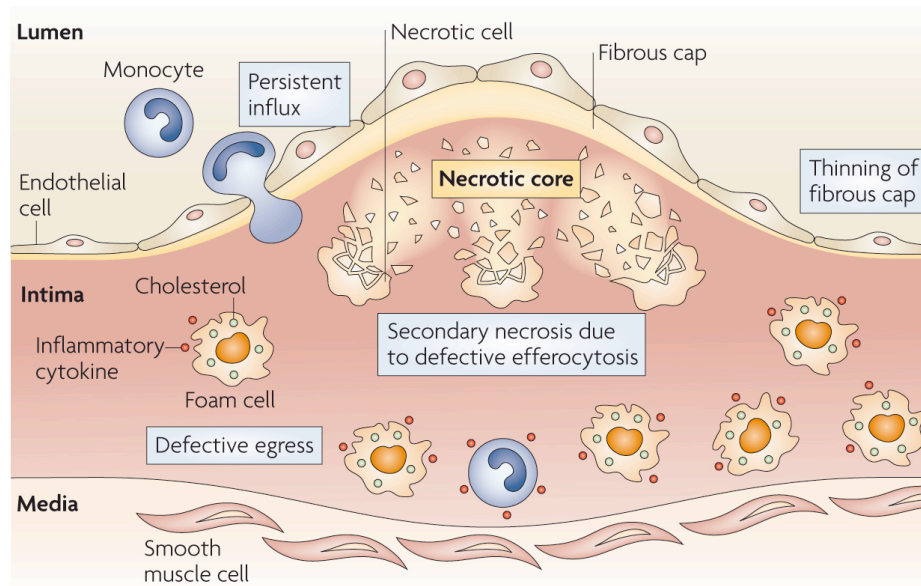


Figure 1: Processus de formation de la plaque dans l'athérosclérose. D'après Tabas, 2010.

1.4. Infarctus du myocarde

L'infarctus du myocarde est défini comme étant une nécrose ou lésion myocardique résultant d'une insuffisance sévère de l'approvisionnement sanguin habituellement produite par une thrombose aiguë ou de l'altération des plaques d'athérosclérose coronarienne (Buja, 2005). L'ischémie myocardique se développe lorsque l'apport sanguin au myocarde est réduit, soit en termes de débit absolu (ischémie à faible débit ou par manque de débit) ou d'une augmentation à la demande accrue des tissus (ischémie de demande). Il se traduit le plus souvent sur l'électrocardiogramme (ECG) par l'apparition d'un sus-décalage du segment ST. Une caractéristique essentielle de l'ischémie est que l'apport d'oxygène aux mitochondries est insuffisant pour soutenir la phosphorylation oxydative (Opie, 1990; Hearse, 1996; Ganz et Braunwald, 1997).

Changements réversibles

Les caractéristiques ultrastructurales des myocytes ischémiques avec troubles métaboliques incluent le gonflement des mitochondries, du réticulum sarcoplasmique, du cytoplasme, la margination et l'agrégation de la chromatine nucléaire. Les caractéristiques ultrastructurales des lésions irréversibles comprennent la densité de la matrice amorphe et de la densité linéaire en mitochondries et les défauts physiques (trous) dans le sarcolemme (Reimer et Jennings, 1991; Reimer et Ideker, 1987; Buja, 1998; Buja et coll., 1988). Les mitochondries peuvent présenter aussi des dépôts de phosphates de calcium. La progression des lésions cellulaires du myocarde de l'état réversible à l'état irréversible est accompagnée de changements dans le tissu interstitiel du myocarde et les microvaisseaux. La nécrose des myocytes et autres cellules déclenche une réaction inflammatoire avec leur remplacement par du tissu cicatriciel.

La progression vers un stade avancé de lésion des cardiomyocytes est médiée par des lésions membranaires progressives impliquant plusieurs mécanismes (Reimer et

Jennings, 1991; Reimer et Ideker, 1987; Buja, 1998; Buja et coll., 1988; Thandroyen et coll., 1992; Buja, 1991). L'altération du milieu métabolique avec une augmentation soutenue de calcium (Ca^{2+}) conduit à l'activation de la phospholipase et à la dégradation des phospholipides avec la libération des lysophospholipides et des acides gras libres. L'altération du métabolisme des acides gras mitochondriaux résulte de l'accumulation d'acides gras libres de la longue chaîne d'acétyl-coenzyme A (acetyl-CoA) et de la carnitine acyle et des molécules amphiphiles. Les produits de la dégradation des phospholipides sont incorporés dans les membranes et peuvent altérer leur fonction. Les espèces toxiques de l'oxygène et les radicaux libres sont générés à partir des myocytes ischémiques, de l'ischémie des cellules endothéliales et des leucocytes activés provoquant des lésions de peroxydation des acides gras des phospholipides membranaires. Les protéases ainsi activées clivent les filaments du cytosquelette qui ancrent normalement le sarcolemme de myofibrilles entraînant la perte de leur ancrage et l'effet de stabilisation. Ces changements conduisent à une augmentation progressive de la perméabilité membranaire, des perturbations d'électrolytes intracellulaires et de l'épuisement de l'ATP. L'événement terminal est la perturbation physique du sarcolemme des myocytes œdématisés (Buja, 2005).

Changements irréversibles

Les lésions cellulaires irréversibles conduisant à l'infarctus, le développement de l'arythmie et la perte de la contractilité du myocarde sont tous pertinents comme conséquences cliniques de la maladie coronarienne occlusive. Les changements ultrastructuraux surviennent rapidement dans le myocarde après le début de l'ischémie. Ces altérations peuvent être considérées comme réversibles si la reperfusion (réapprovisionnement en oxygène) du tissu peut être effectuée rapidement. Toutefois, l'ischémie de plus de 20 à 30 min (sans débit collatéral ou débit résiduel à travers l'artère coronaire) se traduit par une transition d'un état d'altération ultrastructurale réversible à un état de lésions tissulaires irréversibles qui est finalement caractérisé par une nécrose de coagulation (Herdson et coll., 1965, Reimer et Jennings, 1979; Jennings et coll., 1981). Un

certain nombre de facteurs qui influencent l'apparition et l'ampleur des lésions irréversibles sur des modèles expérimentaux ont été identifiés. Il s'agit notamment de la taille de la zone à risque (Reimer et Jennings, 1979; Ytrehus et coll., 1994), de l'étendue de la circulation collatérale ou le débit résiduel à travers l'artère coronaire (Reimer et Jennings, 1979), la durée de l'ischémie (Reimer et Jennings, 1979; Ytrehus et coll., 1994) et la température du myocarde (Miki et coll., 1998). Il existe également des preuves que les influences hémodynamiques systémiques pendant l'ischémie, y compris la fréquence cardiaque peuvent contribuer à la vitesse de développement des lésions irréversibles (Schulz et coll., 1995). Dans les modèles expérimentaux et dans des situations cliniques, l'ischémie peut être suivie par une reperfusion, à savoir la réadmission de l'oxygène et des substrats métaboliques avec élimination des métabolites ischémiques. Le processus de reperfusion est associé à des changements biochimiques supplémentaires, structurels et fonctionnels dans le myocarde et pourrait déterminer la survie des cellules et la mort cellulaire (Ferdinandy et coll., 2007).

Plusieurs études ont déjà bien établi les substrats anatomiques et biochimiques des lésions ischémiques et de mort des cellules du myocarde (Reimer et Jennings, 1991; Reimer et Ideker, 1987; Buja, 1998). Avec la perte d'oxygène, la phosphorylation oxydative mitochondriale s'arrête rapidement, dont la conséquence est une perte de la principale source de production d'adénosine triphosphate (ATP) pour le métabolisme énergétique. Une augmentation compensatoire de la glycolyse anaérobie pour la production d'ATP conduit à l'accumulation des ions hydrogène et du lactate, ce qui entraîne une acidose intracellulaire, l'inhibition de la glycolyse et des acides gras mitochondriaux. Les perturbations de la contraction (découplage contraction excitation) se développent en association avec des modifications dans le système de transport ionique dans le sarcolemme et dans les membranes des organelles (Buja et coll., 1988; Thandroyen et coll., 1992; Buja, 1991), ce qui a pour conséquence l'établissement d'un milieu d'arythmie ventriculaire.

En l'absence de reperfusion, aucune intervention n'est en mesure de limiter le développement de l'infarctus et il est clair que la reperfusion est la condition *sine qua non* pour la récupération du tissu myocardique. La reperfusion et les traitements de revascularisation dans l'infarctus aigu du myocarde ont pour objectif principal la récupération des tissus viables, ce qui peut être réversible dans la zone à risque ischémique et limiter ainsi l'étendue de la nécrose. En cas d'IM, on observe que la mortalité précoce et tardive sont étroitement liées à la durée de l'occlusion de l'artère coronaire non débloquée (Ferdinandy et coll., 2007). Certaines cellules soumises à une ischémie/reperfusion présentent de l'apoptose qui sera décrite plus loin dans ce chapitre.

Comme on l'a décrit dans les paragraphes précédents, l'IM peut être suivie ou non d'une reperfusion entraînant des lésions communément appelées "lésions de reperfusion" et à des conséquences plus ou moins dommageables au myocarde en fonction de la durée de l'ischémie, ce qui fera l'objet de la section suivante.

1.6. Réperfusion et lésions de reperfusion

Le rétablissement rapide de la perfusion coronaire est l'objectif le plus important dans l'IM. Le défaut de rétablissement du flot sanguin est associé à l'IM et une plus grande probabilité d'arythmie ventriculaire, d'insuffisance cardiaque, d'un choc cardiogénique, et à mort (Miller et coll., 1995). Ainsi, l'objectif immédiat de la thérapie de reperfusion est de rétablir rapidement le flux sanguin épicaudique normal, ce qui s'effectue de façon optimale avec une intervention coronarienne percutanée primaire (Prasad et coll., 2004; Keeley et coll., 2003). Les progrès techniques d'intervention et de thérapie pharmacologique ont permis de rétablir le flux épicaudique normale dans plus de 95% des patients subissant une intervention coronarienne percutanée primaire (Prasad et coll., 2004). Néanmoins, en dépit de la reperfusion en temps opportun de l'artère coronaire et le rétablissement du flot

sanguin dans les artères coronaires épicaudiques, la restauration de la perfusion optimale du myocarde; le sauvetage dans l'ensemble des patients reste inaccessible, ce qui représente peut-être la dernière frontière de la thérapie de reperfusion (Keeley et coll., 2003). La reperfusion provoque la contraction des bandes et la surcharge de calcium dans les myocytes lésés de façon irréversible, l'hémorragie dans la région en raison d'une fuite de sang hors des vaisseaux sanguins endommagés, et la libération accélérée des protéines marqueurs utilisées pour détecter l'IM dans les tests de laboratoire. Tous ces changements se produisent dans le myocarde déjà irrémédiablement lésé. Toutefois, il est prouvé que la reperfusion peut conduire à la conversion d'un état réversible à un état irréversible d'une population de myocytes qui a été sévèrement lésé durant les périodes précédant l'ischémie. Un des mécanismes de la lésion irréversible serait la surcharge massive de calcium des myocytes métaboliquement perturbés et du sarcolemme endommagé (Reimer et Jennings, 1991; Buja et coll, 1988; Maxwell et Lip, 1997; Park et Lucchesi, 1998).

Les mécanismes potentiels qui limitent les dommages au muscle cardiaque comprennent le dysfonctionnement microvasculaire et les lésions de reperfusion. Le dysfonctionnement microvasculaire est cliniquement bien documenté et on pense qu'il serait la conséquence d'embolies coronaires distales résultant du thrombus, des plaquettes et l'athérome, la thrombose in situ, le vasospasme et l'inflammation (Srinivasan et coll., 2009). Les effets de la reperfusion sont complexes et incluent certains des effets délétères des lésions de reperfusion. Ces lésions de reperfusion peuvent être définies comme une atteinte myocardique et vasculaire survenant comme conséquence directe de la restauration du flux sanguin vers le tissu ischémique (Jennings et coll., 1960). Elles consistent en l'activation d'une cascade d'événements inflammatoires et se manifestent sous forme de troubles fonctionnels, d'arythmies et de progression accélérée de la mort des cardiomyocytes gravement lésés. Les médiateurs majeurs des lésions de reperfusion sont les radicaux libres d'oxygène (RLO), l'excès de calcium et les neutrophiles (Maxwell et Lip, 1997; Park et Lucchesi, 1998). Les RLO sont générés par les myocytes lésés et les cellules endothéliales dans la zone ischémique, ainsi que les neutrophiles qui pénètrent dans la zone ischémique,

et s'activent durant la reperfusion. Ces RLO vont exacerber les dommages à la membrane, ce qui conduit à une surcharge de calcium. Les neutrophiles s'accumulent dans la microcirculation et libèrent des médiateurs inflammatoires contribuant à l'obstruction microvasculaire et au phénomène de "*no-reflow*" dans le myocarde reperfusé (Maxwell et Lip, 1997; Park et Lucchesi, 1998). Il a été suggéré que le dysfonctionnement cellulaire qui en résulte, l'apoptose et la nécrose médiant le "*stunning*" myocardique, l'absence de recirculation, les arythmies de reperfusion et la perte additionnelle du myocarde (Yellon et Hausenloy, 2007) seraient des mécanismes probables. La physiopathologie exacte des lésions de reperfusion reste encore à être élucidée bien que plusieurs mécanismes eurent été proposés comme les RLO, la surcharge calcique ou l'inflammation. La compréhension actuelle de l'étiologie des lésions de reperfusion est dérivée des études animales où les interventions visent à empêcher les médiateurs présumés des lésions de reperfusion permettant de réduire la taille de l'infarctus. Plusieurs de ces mécanismes sont activés dans les premières minutes suivant la reperfusion, bien que le processus peut continuer plusieurs heures aboutissant à une progression de la nécrose lors de l'ischémie ("*wave front of injury*") (Reimer et Jennings, 1977; Prasad et coll., 2009). En revanche, la reperfusion et le préconditionnement ont prouvé avoir des effets importants sur la limitation de la taille de l'infarctus. La reperfusion peut de façon évidente limiter l'étendue de la nécrose myocardique avec une ampleur modérée directement liée au moment de l'intervention (Maxwell et Lip, 1997; Park et Lucchesi, 1998).

Une fois que l'importance de la taille de l'infarctus dans la détermination du pronostic est établie, une enquête intensive portera sur la recherche des moyens de réduire la taille de l'infarctus. Les traitements pharmacologiques n'ont généralement pas pu engendrer des effets cliniquement importants quant à la réduction de la taille de l'infarctus suite à une occlusion coronaire prolongée (Reimer et Jennings, 1991; Reimer et Ideker, 1987; Buja, 1998.).

L'IM est accompagné d'une réaction inflammatoire dans laquelle les cytokines proinflammatoires jouent un rôle important et qui induit à la fois un dysfonctionnement et un remodelage cardiaque (Takano et coll., 2003). Ces cytokines sont produites par une variété de tissus à l'intérieur du corps humain dont entre autre le tissu adipeux, les macrophages, les parois des vaisseaux sanguins et le cœur (Rader, 2000). Suite à un infarctus du myocarde, le cœur entre dans une série de changements structuraux, géométriques et fonctionnels progressifs connus sous l'appellation de remodelage cardiaque qui enfin va conduire à la défaillance cardiaque (Pfeffer et coll., 1990; Litwin et coll., 1994).

Durant l'ischémie/reperfusion, les cytokines et les neutrophiles peuvent causer des dommages au moins par trois mécanismes : 1) la libération des RLO, 2) la dégranulation des élastases et des protéases, et 3) la libération des métabolites de l'acide arachidonique et des facteurs d'activation des plaquettes (Jordan et coll., 1999). Les cytokines proinflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 ne sont pas exprimées ou produites dans un cœur en santé (Kapadia et coll., 1997; 1995), mais plutôt lorsqu'un dommage au myocarde survient et en réponse à ce dommage (Mann, 2003). Cependant, dans les premières heures de l'ischémie, les cytokines intramyocardiques sont augmentées. Les déclencheurs de la libération des cytokines durant les syndromes coronariens aigus comprennent entre autres les stimuli ischémiques, l'étirement mécanique, les RLO et les voies d'amplification des cytokines elles-mêmes. Dans ce cas, la régulation de l'angine instable ou de l'infarctus de petite taille peut ramener à des niveaux de base le niveau des cytokines les jours qui suivent l'évènement. Par contre, dans le cas où la taille de l'infarctus est plus grande, si les réponses inflammatoires du système immunitaire sont exubérantes, l'augmentation des cytokines peut être prolongée où une deuxième vague d'augmentation des cytokines peut survenir et durer plusieurs semaines correspondant à la phase du remodelage du myocarde (Deten et coll., 1999). Le TNF- α et l'IL-6 sont rapidement libérés dans la zone ischémique centrale. De plus, durant l'ischémie du myocarde et

particulièrement durant la reperfusion, les radicaux libres d'oxygène participent comme des seconds messagers dans les événements de la signalisation immunitaire du myocarde activant les facteurs de transcription nucléaires et conduisant à l'hypertrophie cellulaire ainsi qu'à l'apoptose (Sia et coll., 2002). En outre, la sécrétion des cytokines dans l'ischémie ou l'IM peut conduire à l'hypertrophie des myocytes (Yokoyama et coll., 1997) ou à l'apoptose (Palojoki et coll., 2001; Krown et coll., 1996), à un défaut de contractilité (Kubota et coll., 1997), à la transduction du signal inflammatoire (Frangogiannis et coll., 2002) et plus tard à des effets sur la matrice extracellulaire, les intégrines et à la régénération vasculaire et cardiaque (Tousoulis et coll., 2006). Ensemble, l'IL-6 et le TNF- α peuvent diminuer la contractilité du myocarde par la réduction du calcium cytosolique via les altérations de la fonction du reticulum sarcoplasmique (Yokoyama et coll., 1993).

Comme, on le voit, il apparaît donc que les cytokines proinflammatoires comme le TNF- α peuvent conduire soit à la mort cellulaire par apoptose ou à la survie cellulaire. Ces deux phénomènes sont sous la dépendance d'un certain nombre de facteurs comme les conditions de stimuli et des voies de signalisation activées. Les sections suivantes reprendront en détail la mort et la survie cellulaire induite par le TNF- α .

1.8. Apoptose

L'apoptose est une mort cellulaire programmée régulée physiologiquement et génétiquement jouant un rôle central dans le développement, la morphogenèse, le renouvellement normal des cellules et dans le fonctionnement du système immunitaire (Takemura et Fujiwara, 2004). La mort des cardiomyocytes par apoptose survient non seulement durant l'embryogenèse, mais aussi après la naissance et est impliquée dans la morphogenèse du système de conduction incluant le nœud sinusal, le nœud auriculo-ventriculaire et le faisceau de Hiss (James, 1994). De plus, Yaoita et coll. (2000) ont

montré que l'apoptose est profondément impliquée dans la plupart des maladies cardiaques comme dans l'ischémie/reperfusion, l'IM aigu et chronique et le cœur hibernant.

En considérant les changements ultrastructuraux qui prennent place durant l'apoptose, ceux du noyau sont les plus impressionnants. Durant l'apoptose, la chromatine nucléaire se condense de manière homogène, s'attache à la membrane nucléaire et prend l'aspect d'un croissant, demi-lune, ou fer à cheval. La chromatine condensée est brillante et bien délimitée. Le rétrécissement cellulaire accompagné par une condensation cytoplasmique se produit également jusqu'à ce que la cellule devienne multi-lobule, puis fragmentée. Le noyau est lui aussi fragmenté, mais d'autres organites subcellulaires sont conservés sur le plan morphologique jusqu'à l'étape finale. Les fragments de cellules, appelés corps apoptotiques sont entourés de la membrane plasmique qui semble intacte, de sorte que le contenu cellulaire n'est pas libéré et sont rapidement phagocytés par les macrophages ou les cellules avoisinantes (Takemura et Fujiwara, 2004). L'apoptose ne conduit pas à l'inflammation qui est différent de la nécrose dans laquelle se produit une réaction inflammatoire due à la rupture de la membrane plasmique et la libération du contenu cellulaire. La fragmentation spécifique de l'ADN au sein des unités des nucléosomes est l'un des traits biochimiques les plus caractéristiques de l'apoptose (Wyllie, 1980).

La nécrose est un terme général décrivant un autre mode de mort cellulaire qui diffère de l'apoptose. L'usage commun du terme "nécrose" est quelque peu problématique, parce que (1) les cellules mortes sont si gravement dégradées par la phase finale qu'on ne peut pas morphologiquement déterminer si elles sont mortes par apoptose ou par nécrose et (2) la nécrose réfère uniquement à un stade irréversible de la mort cellulaire, même si généralement les cellules qui meurent passent d'un stade réversible à un stade irréversible (Takemura et Fujiwara, 2004).

Selon Tanuma et coll., 1996, le processus apoptotique peut être subdivisé en trois étapes :

1.8.1. Induction : l'induction implique l'introduction des stimuli apoptotiques aux cellules. Une variété de stimuli chimiques et mécaniques incluant la liaison des ligands au récepteur Fas ou au récepteur du TNF, les radiations, les produits chimiques, la chaleur et l'élimination des facteurs de croissance ou autres hormones sont autant de facteurs capables d'induire l'apoptose.

1.8.2. Détermination : pendant la deuxième étape du processus apoptotique, c'est-à-dire l'étape de la détermination, le signal est transféré au noyau où il affecte l'expression des gènes. Les oncogènes comme le c-myc, le c-fos, le bcl-2 et le p-53 et bien d'autres sont exprimés, ce qui donne des produits qui favorisent ou suppriment l'expression ou l'activation des médiateurs proapoptotiques et la prosurvie.

1.8.3. Exécution : pendant l'exécution, étape finale du processus apoptotique, la fragmentation de l'ADN ainsi que des changements morphologiques caractéristiques de l'apoptose surviennent (Reed, 2000). Contrairement à la diversité des voies conduisant à l'induction, l'exécution est bien conservée en termes biochimiques spécifiques et implique la protéolyse par les caspases, une famille de protéases spécifiques aspartate-cystéine, et la fragmentation de l'ADN spécifique par les déoxyribonucléases.

1.8.4. Voie apoptotique extrinsèque : les récepteurs spécifiques des ligands se lient au domaine contenant des récepteurs de mort cellulaire qui subissent une trimérisation et recrutent des protéines adaptatrices (FADD et TRADD). La liaison des protéines adaptatrices au domaine de mort cellulaire initie le clivage protéolytique des procaspases 8, 10, et 2, conduisant à l'activation de procaspases 3, 6 et 7. Des exemples de ces récepteurs membranaires incluent les récepteurs ligands 1 et 2 (TRAIL R-1 / 2) inducteurs d'apoptose du TNF, le CD95/FAS/APO-1, le récepteur du TNF 1 et 2 (TNFR-1/2), et le récepteur TWEK. Certains de ces récepteurs de surface cellulaire, comme les récepteurs de cytokines FAS/APO-1 (CD95) sont impliqués à la fois dans l'apoptose et les mécanismes inflammatoires (Lopez-Neblina et coll., 2005).

1.8.5. Voie apoptotique intrinsèque: cette voie est mitochondriale dépendante avec les membres de la famille des protéines pro-apoptotiques Bax et d'autres membres de la famille Bcl-2 agissant comme régulateurs de l'apoptose de la membrane mitochondriale interne de libération des protéines. Les stimuli apoptotiques (infarctus/reperfusion, le rayonnement ultraviolet, les événements protéolytiques) qui perturbent la fonction mitochondriale peuvent conduire à une surproduction de RLO avec une régulation à la baisse concomitante des systèmes de piégeage des RLO comme le glutathion (GSH). La production excédentaire des RLO est due en partie à la diminution de piègeurs de RLO tel que le GSH cellulaire. Les RLO sont aussi des sous-produits du métabolisme énergétique des mitochondries. Les mitochondries utilisent le potentiel de membrane généré par la pompe à proton de la chaîne de transport d'électrons non seulement pour phosphoryler l'ADP, mais aussi pour séquestrer le Ca^{2+} , agissant en tant qu'évier à Ca^{2+} pour la cellule. La dysfonction mitochondriale résulte des surcharges calciques extrêmes et de l'épuisement de l'énergie au cours de l'ischémie/reperfusion, inhibant la phosphorylation oxydative. Les stimuli pathologiques qui conduisent aux surcharges calciques mitochondriales et de la déplétion énergétique initient des événements qui activent l'ouverture des pores de transition de perméabilité mitochondriale. Cette action des signaux transloque et multimérise la protéine Bax, une protéine cytosolique pro-apoptotique, dans la membrane mitochondriale externe. Au cours de l'ischémie/reperfusion, les RLO sont introduits dans le milieu cellulaire, activant la voie apoptotique intrinsèque.

Dans les conditions physiologiques, la protéine Bcl-2, un membre anti-apoptotique de la famille Bcl-2 localisé sur la membrane mitochondriale externe régule l'intégrité de la membrane et la libération du cytochrome c. La protéine Bax qui est liée à la dégradation de la caspase-nucléaire indépendante initie un efflux du cytochrome c et du facteur induisant l'apoptose ("*Apoptotic inducing Factor AIF*") soit par la formation de pores ou l'association avec Bcl-2. Le cytochrome c cytosolique induit l'oligomérisation d'Apaf-1, une protéine adaptatrice qui se lie à la procaspase-9 par l'intermédiaire de la protéine CARD.

L'Apaf-1, l'ATP, et le cytochrome c cytosoliques se combinent pour former l'apoptosome qui active la caspase 9 et par conséquent, l'activation en aval des caspases 3, 6 et 7. En réponse à l'AIF induisant des dommages à l'ADN, la p53, la protéine suppresseur de tumeur s'accumule et médie l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, ou la mort cellulaire. De plus, la p53 peut servir de médiateur des événements apoptotiques à la fois intrinsèque et extrinsèque par l'activation transcriptionnelle des gènes, dont Fas, Bax, les gènes contrôlant les RLO et le TRAIL-R2 (Lopez-Neblina et coll., 2005).

1.9. Apoptose et survie cellulaire induite par le TNF- α

Le TNF- α peut conduire à la mort cellulaire par apoptose, à la préservation (survie) cellulaire ou à l'hypertrophie (Figure 2). Ces processus opposés sont complétés par deux récepteurs de surface différents à savoir le récepteur TNF-R1 et le récepteur TNF-R2 (MacEwan, 2002). Les récepteurs de surface TNF-R1 appartiennent à la famille des récepteurs de mort cellulaire.

L'interaction du TNF avec son récepteur TNF-R1, conduit à la trimérisation et au regroupement du domaine de mort intracellulaire. Ceci permet la liaison de la molécule adaptatrice intracellulaire appelée TRADD (*TNFR Associated Death Domain*) via une interaction entre les domaines de mort. TRADD à son tour s'associe à une autre molécule adaptatrice appelée FADD (Fas Associated Death Domain). FADD recrute la procaspase-8 par une interaction protéine-protéine via le domaine effecteur de mort (DED) pour former un complexe induisant le signal de mort (DISC) (Philchenkov, 2004; Thorburn, 2004). Au cours de la formation de DISC, la procaspase-8 est clivée pour produire la caspase-8. La caspase-8 active est rapidement libérée de DISC dans le cytoplasme et sert d'enzyme pour les caspases-3, -6 et -7 effectrices. Ces caspases effectrices en particulier la caspase-3 clive

un certain nombre de substrats aux caractéristiques morphologiques et biochimiques de l'apoptose (Prior et Salvesen, 2004; Zimmerman et al., 2002).

Le TNF peut promouvoir la survie et la préservation cellulaire à travers l'activation de l'expression des gènes cytoprotecteurs. Les facteurs de transcription tels que le (facteur nucléaire kappa B) NF- κ B et l'activation des protéines kinases/c-Jun N-terminal kinase (JNK) participent dans ce processus et conduisent finalement à la translocation de NF- κ B dans le noyau et à l'activation des gènes impliqués dans l'inflammation, la croissance et la survie cellulaire (Liu et coll., 1996; Natoli et coll., 1997).

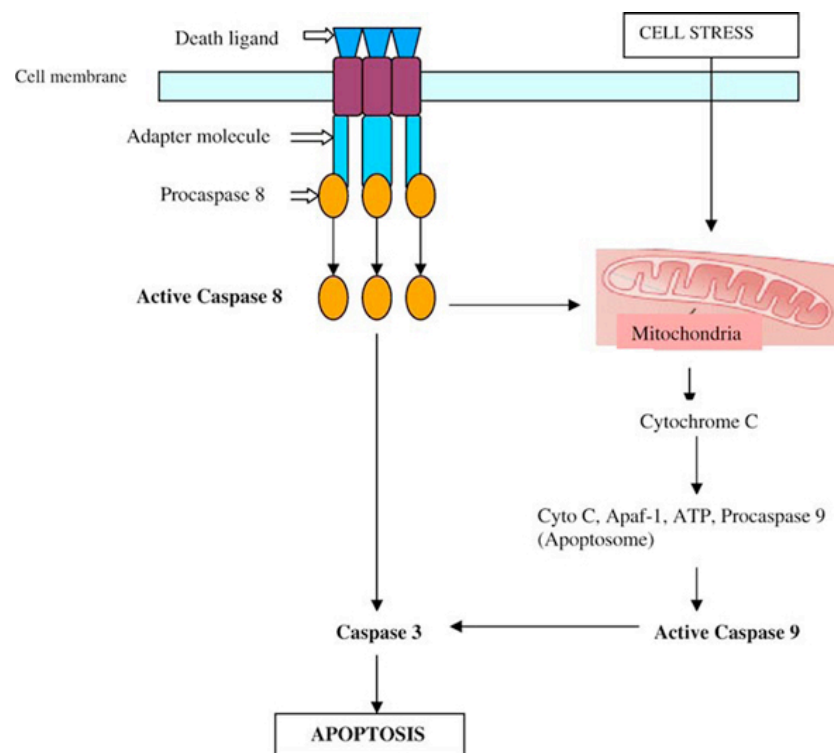


Figure 2: Voies intrinsèque et extrinsèque de l'apoptose. D'après Rupinder et coll., 2007.

Chapitre 2 : Le syndrome post-infarctus du myocarde

L'association entre les maladies cardiovasculaires et la dépression est à la fois multiforme et bidirectionnelle. Depuis le milieu des années 1980, un ensemble impressionnant de recherches épidémiologiques a examiné les liens existants entre la dépression et les maladies coronariennes (Frasure-Smith et Lespérance, 2010). La dépression est plus fréquente chez les patients atteints de maladies coronariennes que chez ceux sans maladie cardiaque, et plus de 20 % des patients hospitalisés après un IM remplissent les critères diagnostics pour un trouble dépressif majeur (Thombs et coll., 2006). Ces malades déprimés présentent un risque significativement plus élevé de la morbidité et la mortalité cardiaque (cause importante d'invalidité dans le monde) même en l'absence d'un diagnostic de dépression majeure, alors que la dépression est presque 3 fois plus fréquente chez les patients après un infarctus aigu du myocarde et contribue à un mauvais pronostic (Lippi et coll., 2009). Guck et coll. (2001) ont montré que 65 % des patients avec un IM développent des symptômes dépressifs et 15-22 % de ces patients vont développer la dépression majeure, dépression qui est associée à une très grande mortalité et morbidité chez les patients (Bush et coll., 2001; Frasure-Smith et coll., 1995; Lespérance et coll., 2002). Jusqu'à tout récemment, il existait très peu de connaissances sur les mécanismes physiopathologiques de la dépression post-infarctus du myocarde. Cependant, des travaux récents effectués dans les laboratoires de Roger Godbout et Guy Rousseau aident à mieux appréhender la physiopathologie de cette maladie par le développement et la validation d'un nouveau modèle animal (Wann et coll., 2006, 2007, 2009). C'est ainsi que des facteurs tels qu'une détérioration du comportement par les troubles de l'humeur, le dysfonctionnement du système nerveux autonome, la dégradation de l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalien (HHS), l'augmentation de l'activation plaquettaire et du processus inflammatoire pourrait être à la base de ce syndrome post-infarctus du myocarde. Dans la section suivante, nous allons aborder la dépression comme syndrome après à un IM.

2.1. Dépression

Les troubles dépressifs sont la deuxième cause d'invalidité dans le monde, après les cardiopathies ischémiques (Murray et Lopez, 1996, Rozanski et coll., 1999), avec une incidence estimée à près de 12% chez les hommes et 20% chez les femmes durant la vie (Kessler et coll., 2003). Les troubles dépressifs englobent essentiellement la dépression majeure et la dysthymie. La dépression est caractérisée par la tristesse ou l'irritabilité accompagnée de plusieurs changements psychophysiologiques (Belmaker, 2008) :

- le trouble de l'appétit,
- le dysfonctionnement sexuel,
- la perte de la capacité à éprouver du plaisir dans le travail ou avec des amis,
- les pensées suicidaires,
- le ralentissement de la parole et l'action,
- les troubles du sommeil.

Selon le Manuel de diagnostic et de statistique des troubles mentaux (*American Psychiatric Association*, 2000) et la classification statistique internationale des maladies et des problèmes de santé de l'Organisation mondiale de la santé (OMS, 2008), les troubles dépressifs majeurs sont traditionnellement classés en plusieurs sous-types : la dépression mélancolique, la dépression atypique, et la dépression catatonique. Les autres types de dépression non classés comme les troubles dépressifs majeurs sont la dépression post-partum et les troubles affectifs saisonniers. Par opposition à la dépression majeure, la dysthymie dure deux ans et plus avec des symptômes moins sévères qui n'invalident pas la personne, mais pourraient l'empêcher de fonctionner normalement ou de ressentir un sentiment de bien-être (*National Institute of Mental Health*, 2010; Angst et coll., 2008). De plus, les facteurs génétiques et environnementaux peuvent contribuer à la vulnérabilité d'une personne à la dépression, touchant principalement la maturation des circuits

cérébraux impliqués dans le fonctionnement affectif (Ansorge et coll., 2007). Finalement, les substrats neuroendocriniens comme le facteur de libération de la corticotropine, les corticoïdes et les neurotransmetteurs centraux tels que la sérotonine et l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), ainsi que des altérations de la plasticité neuronale, voire la survie neuronale peuvent jouer un rôle important dans la survenue de la dépression (Hayley et coll., 2005).

2.1.1. Caractéristiques du sommeil dans la dépression

Les troubles du sommeil étant l'un des symptômes de la dépression, approximativement 80% des patients hospitalisés et 70% des malades en consultation externe avec une dépression majeure rapportent des difficultés d'initiation ou de maintien du sommeil ainsi qu'un réveil matinal précoce (Ohayon et Shapiro, 2000). D'autres plaintes fréquentes du sommeil rapportées par les patients déprimés sont l'agitation et un sommeil non réparateur bien que de durée normale (Van Moffaert, 1994). Les études de McCall et coll. (2000) ont montré que 93% des patients déprimés hospitalisés se plaignaient d'insomnie. L'insomnie est parfois si profonde que les patients ressentent leur dépression comme étant principalement un trouble du sommeil.

La dépression est donc caractérisée par une série de troubles du sommeil. Le sommeil qui est précédé de l'éveil est divisé en deux phases principales : le sommeil lent et le sommeil paradoxal. Dans les sections suivantes, nous décrirons de façon générale l'éveil, puis le sommeil et ses principaux stades.

2.1.1. Éveil

Le stade d'éveil est caractérisé par un électroencéphalogramme (EEG) de faible voltage, de haute fréquence généralement supérieure ou égale à 6 Hz ($\geq 6-8$ Hz) et couplée

avec un haut niveau d'activation de l'électromyogramme (EMG). La période d'endormissement (sommolence) est caractérisée par l'apparition de basses fréquences à l'EEG, des ondes pointues ou vertex et la diminution du tonus musculaire.

2.1.2. Les stades du sommeil

Le sommeil est un état physiologique réversible avec une motilité et une réactivité réduites aux stimuli sensoriels (Stenberg, 2007). Le sommeil des mammifères, y compris les rongeurs est subdivisé en deux phases, soit le sommeil lent et le sommeil paradoxal ou "*rapid eye movement (REM) sleep*" (Figure 3). Le SL se subdivise en quatre stades. Chez l'homme, on détermine les stades de sommeil par l'EEG, l'EMG et l'électrooculogramme (EOG). Chez les rongeurs, on peut se contenter des deux premiers paramètres (Timo-Iaria et coll., 1970).

2.1.3. Sommeil lent : durant le sommeil lent, plusieurs fonctions de l'organisme baissent ou se trouvent ralenties. Ce sont par exemple la respiration, le pouls, le métabolisme, la fonction sympathique et parasympathique (Figure 3). Ce type de sommeil est généralement constitué du sommeil lent léger (SLL) et du sommeil lent profond (SLP).

2.1.3.1. Stade 1: ce stade est caractérisé par la disparition de l'activité EEG alpha (8-10 Hz), propre à l'animal éveillé, mais détendu, et l'apparition de l'activité EEG thêta (6-8 Hz). Il est aussi caractérisé par une activité EMG encore ample. Ce stade est fragile et peut être interrompu par une stimulation même légère.

2.1.3.2. Stade 2: il est caractérisé par l'apparition des fuseaux de sommeil, bouffées de 5-12 Hz à l'EEG, lesquelles reflètent l'hyperpolarisation de la voie thalamocorticale, signe que le cortex s'isole du monde extérieur afin de permettre et protéger le sommeil. Ce stade est déterminé lorsque les ondes delta occupent moins de 50% d'une époque.

Les stades 1 et 2 sont généralement regroupés ensemble et constituent le sommeil lent léger (SLL).

2.1.3.3. Stade 3 et 4: les ondes EEG deviennent de plus en plus amples et très lentes (ondes delta : 1-4 Hz, $> 75 \mu\text{V}$) occupant plus de 50% d'une époque. Ces deux stades constituent ensemble le sommeil lent profond (SLP) qui est associé à des fonctions comme la récupération somatique et à la réparation des tissus.

2.1.4. Sommeil paradoxal : Aserinsky et Kleitman ont décrit en 1953 le sommeil avec mouvements oculaires rapides encore appelé "*rapid eye movement (REM) sleep*" qui met en corrélation l'activité onirique chez l'homme (Aserinsky et Kleitman, 1953; Dement et Kleitman, 1957). Plus tard dans les années 50, Jouvet et Michel (1959) ont découvert chez les chats une phase de sommeil caractérisée par une disparition complète du tonus musculaire, et paradoxalement associée à une activation corticale et des mouvements oculaires rapides. Compte tenu de sa singularité, ils ont proposé d'appeler cet état, **sommeil paradoxal** (SP) correspondant au sommeil REM décrit par Aserinsky et Kleitman (1953). La survenue d'une atonie musculaire rapportée par Jouvet le conduit à proposer que le SP était un état de sommeil et un état distinct de la vigilance, indépendant du sommeil à ondes lentes (SOL) et de la veille.

Notons que le sommeil paradoxal est présent chez tous les mammifères, alors que les oiseaux ont des accès très brefs de SP. À la naissance, les animaux naissant avec un système nerveux immature ont un pourcentage beaucoup plus élevé de sommeil paradoxal que les adultes de la même espèce (McCarley, 2007). Le SP a une durée variable en fonction de la maturité du système nerveux central (cobaye vs rat). Le cycle SL-SP dépend de la taille de l'animal, du mode alimentaire (carnivores, herbivores, rongeurs, etc.), ou du statut chasseurs-chassés (prédateurs vs proies). Par comparaison, les plus gros animaux ont le plus long cycle de SL-SP et les plus petits animaux ont des cycles plus courts. Le cycle SL-SP chez le rat est d'environ 12 minutes alors qu'il est d'environ 22 minutes chez le chat

et d'environ 90 minutes chez l'humain. Cette séquence se répétera tout au cours de la période principale de sommeil. En terme de pourcentage, un animal nocturne comme le rat passe 80% de la période de lumière en sommeil et seulement 20% de la période d'obscurité en sommeil (Majde et Krueger, 2005). Le SP occupe près de 25% du temps de sommeil chez l'humain et un peu moins de 10% du temps de sommeil chez le rat (Zepelin et coll., 2005).

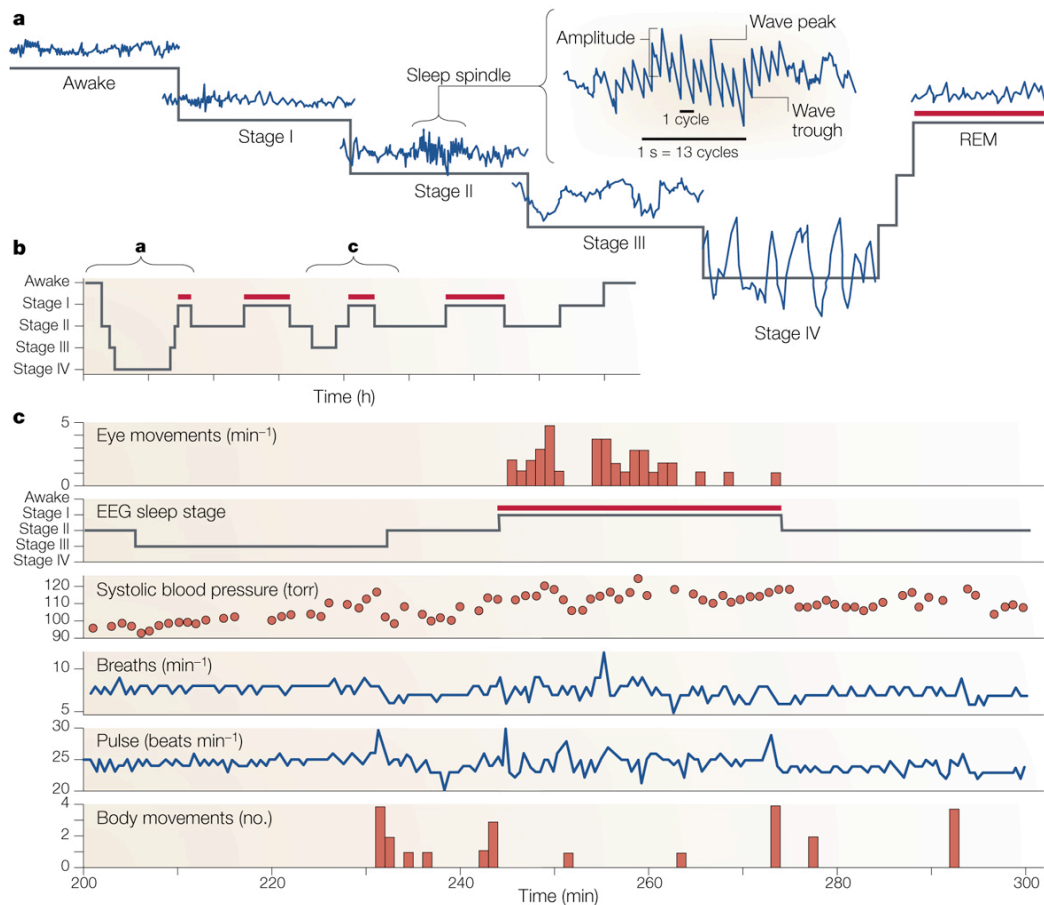


Figure 3: Schéma intégratif des stades de sommeil et de quelques paramètres physiologiques au cours du sommeil. D'après Pace-Schott et Hobson 2002.

Le SP est caractérisé par un EEG actif ressemblant à celui de l'éveil ou du stade 1 (activité de fréquences mixtes et de faible amplitude), une atonie musculaire due à une hyperpolarisation des motoneurones spinaux via le tronc cérébral, des mouvements oculaires rapides. Ce stade est aussi associé à des fonctions neurocognitives telles que la maturation du système nerveux central et la synaptogénèse (plasticité). Le SP intervient aussi dans la mémoire (encodage et rappel) et c'est pendant ce stade que s'effectue la consolidation de l'information apprise ainsi que la réactivation des fonctions vitales nécessaires à la survie.

2.1.4.1. Genèse du sommeil lent

Le modèle original des interactions réciproques (Hobson et coll., 1975; McCarley et Hobson, 1975) suggère que les neurones aminergiques et cholinergiques de la jonction mesopontine interagissent d'une manière qui se traduit par l'alternance ultradienne du cycle de sommeil avec ou sans mouvement oculaire rapide chez les mammifères. (Figure 4). Dans ce modèle, les cellules appelées REM-on de la formation réticulée pontique sont excitées postsynaptiquement à leurs terminaisons synaptiques. Les cellules appelées REM-off sont des cellules inhibitrices noradrénergiques ou serotonergiques. Au cours de la veille, le système pontique aminergique est activé de manière tonique et inhibe le système cholinergique pontique. Au cours du sommeil lent, l'inhibition aminergique devient de plus en plus faible et l'inhibition cholinergique devient plus forte. Au début du sommeil paradoxal (REM), l'inhibition aminergique est levée, et les pics d'excitabilité des neurones cholinergiques augmentent tandis que les autres voies de sorties sont inhibées.

2.1.4.1. Genèse du sommeil paradoxal et neurones cholinergiques du tronc cérébral

Les mécanismes finaux responsables de la genèse du sommeil paradoxal résident dans la formation réticulée pontique (Shiromani et coll., 1987, Steriade et McCarley, 1990). De plus, des évidences neuroanatomiques de coupe transversale et des études

pharmacologiques indiquent que ces mécanismes sont essentiellement de nature cholinergique (Shiromani et coll., 1996). Les neurones cholinergiques sont localisés dans l'aire tegmentaire dorso-latérale (LDT) et l'aire tegmentaire pedonculopontin (PPT) (Jones et Beaudet, 1987; Shiromani et coll., 1988). Les études anatomiques montrent que les neurones cholinergiques LDT-PPT possèdent des projections ascendantes et descendantes (Losier et Semba, 1993; Semba et coll., 1990; Shiromani et coll., 1990), y compris des axones qui bifurquent, projetant sur de multiples cibles (Shiromani et coll., 1990) comme la formation réticulée pontique (Mitani et coll., 1988), le thalamus et le prosencéphale basal où leurs actions sont importantes pour désynchroniser l'EEG. Ces neurones LDT-PPT ont une fréquence de décharge très élevée durant l'éveil et le SP et une basse fréquence de décharge au cours du SOL (McCarley, 2007) et silencieux en éveil. Il a été montré depuis le milieu des années 60 qu'une injection d'agoniste cholinergique dans la formation réticulée pontique produisait un état qui mimait fortement et de manière naturelle le SP (Steriade et McCarley, 2005). Les données récentes suggèrent que les influences cholinergiques agiraient pour augmenter l'excitabilité des neurones réticulaires du tronc cérébral. Ces influences cholinergiques agiraient également en tant qu'effecteurs au cours du SP soit directement ou indirectement par inhibition ou désinhibition des neurones GABAergiques inhibiteurs des neurones de la formation réticulaire (McCarley, 2007). Une destruction des corps cellulaires des neurones LDT-PPT par des injections neurotoxiques locales d'acides aminés excitateurs conduit à une réduction marquée du SP (Webster et Jones, 1988) tandis que leur stimulation électrique augmente le SP (Thakkar et coll., 1996). Il existe un nombre important de peptides (substance P, peptide intestinal vasoactif) colocalisés avec l'acétylcholine dans les noyaux du LDT-PPT; cette colocalisation suggère qu'ils ont une colibération synaptique avec l'acétylcholine. En plus de l'acétylcholine, il existe également un nombre important de neurotransmetteurs comme le GABA, le glutamate (Boucetta et Jones, 2009; Wang et Morales, 2009) et les monoamines (sérotonine, norépinephrine) qui agissent de concert pour moduler et contrôler les états comportementaux à travers le cycle éveil-sommeil.

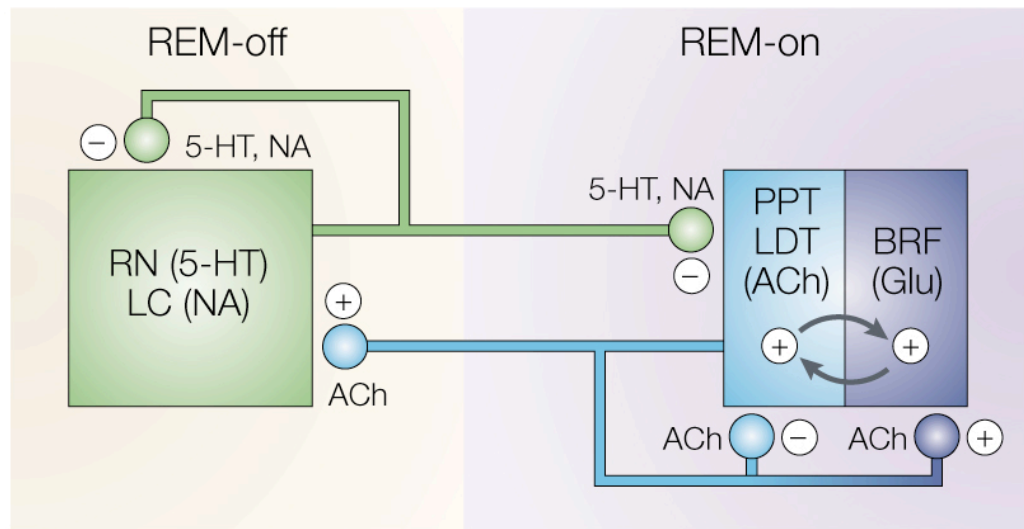


Figure 4: Modèle révisé des interactions réciproques dans l'alternance du sommeil avec et sans mouvement oculaires rapides (REM-NREM). D'après Pace-Schott et Hobson 2002.

L'organisation du sommeil dans la dépression humaine montre une augmentation de la quantité du SP (Benca et coll., 1992; Shaffery et coll., 2003) et une augmentation de la densité des mouvements oculaires au cours de ce stade. En plus, on observe une réduction du sommeil lent profond, une augmentation du temps d'éveil, une insomnie précoce ou tardive et une augmentation du stade 1 (Lam, 2006; Reynolds et Kupfer 1987; Knowles et MacLean 1990; Berger et Riemann 1993; Armitage et Hoffmann 1997) et ce, particulièrement pendant le premier cycle de la nuit (Wilson et coll., 2000). Comparés aux sujets témoins, les patients déprimés montrent une réduction de l'efficacité du sommeil due aux multiples éveils nocturnes (Lam, 2006). De plus, l'EEG de ces patients montre moins d'activité EEG lente de type "Delta" dans le premier cycle et plus dans le second cycle de sommeil (Lam, 2006). On note aussi une augmentation de l'activité EEG de types "Beta" et "Alpha" (Borbély et coll., 1984; Armitage et coll., 1992, 1993, 1995; Armitage 1995; Armitage et Hoffmann 1997). La plupart des antidépresseurs altèrent l'architecture du

sommeil (Sculthorpe et Douglass, 2010). Les antidépresseurs tricycliques et inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine permettent d'augmenter la latence au SP (Sonntag et coll., 1996; Armitage, 2000; Wilson et coll., 2000) à des valeurs proches des valeurs normales.

Chez l'animal, il existe plusieurs modèles de la dépression. Les troubles du sommeil observés chez ces modèles comme le modèle de stress chronique modéré (Willner, 2005), le modèle de bulbectomie olfactive bilatérale (Song et Leonard, 2005), le modèle de détresse apprise ou "*Learned helplessness*" (Adrien et coll., 1991), le modèle génétique ou "*Flinders Sensitive Line*" (Overstreet et coll., 2005) et le modèle d'injection néonatal de clomipramine (Vogel et coll., 1990) sont similaires à ceux rencontrés chez l'humain. D'où la nécessité de caractériser l'architecture du sommeil de notre modèle de dépression post-infarctus du myocarde décrit dans les articles 1 et 2 de cette présente thèse.

2.2. Relation entre la dépression et les maladies cardiovasculaires.

Plusieurs évidences obtenues à partir des investigations autant chez l'homme que chez l'animal suggèrent l'existence d'une relation bidirectionnelle entre les troubles de l'humeur et le dysfonctionnement cardiovasculaire (Grippe, 2009) impliquant plusieurs facteurs interreliés les uns des autres (Musselman et coll., 1998) (Figure 5). La dépression est trois fois plus fréquente chez les patients après un IM que dans la population en général et est associée à un mauvais pronostic (Anda et coll., 1993). La physiopathologie cardiovasculaire comme l'IM et la défaillance cardiaque congestive est significativement reliée à l'altération des états de l'humeur et la maladie coronarienne; inversement, les syndromes dépressifs sont considérés comme des facteurs de risque pour la morbidité et la mortalité cardiaque (Carney and Freedland, 2003; Van der Kooy et coll., 2007).

L'association entre l'altération de l'humeur et les maladies cardiovasculaires est indépendante des facteurs de risque cardiovasculaires traditionnels (hypertension, niveaux élevés de cholestérol et d'indice de masse corporelle) et a été démontrée chez les individus avec ou sans historique de physiopathologie cardiaque (Carney and Freedland, 2003; Frasure-Smith et Lespérance; 2003).

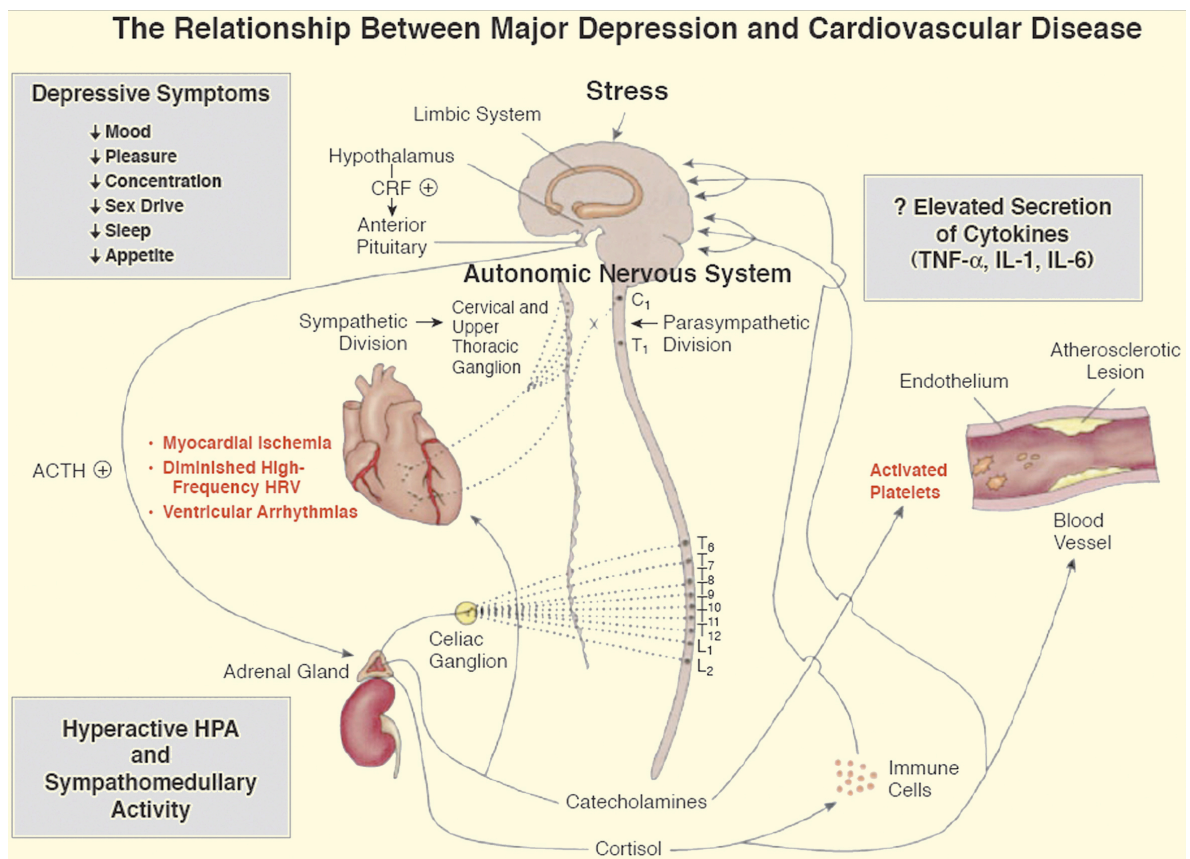


Figure 5: Schéma hypothétique des altérations physiopathologiques associées à la dépression et qui peuvent contribuer à la vulnérabilité des maladies cardiovasculaires. D'après Musselman et coll., 1998.

Plusieurs évidences biologiques ont été suggérées à ce jour et toutes tendent à montrer l'existence d'une relation entre la dépression et les maladies cardiovasculaires. Pour alléger la lecture, nous allons considérer et décrire quelques-unes d'entre elles.

2.3.1. Variabilité cardiaque et dysfonctionnement du système nerveux autonome

Des études de la fréquence cardiaque au repos chez les patients déprimés ont été réalisées ainsi que des mesures du niveau des catécholamines ou d'autres marqueurs de la fonction autonome. Ces études ont révélé que la fréquence cardiaque était très élevée chez les patients déprimés comparativement aux sujets témoins (Lake et coll., 1982; Wyatt et coll., 1971; Veith et coll., 1994; Lahmeyer et Bellier, 1987) et en accord avec l'altération de la fonction du système nerveux autonome. L'élévation de la fréquence cardiaque au repos chez les patients déprimés est un facteur de risque de la mort subite cardiaque, de même que dans la population générale (Kannel et coll., 1987; Seccareccia et coll., 2001). Cette élévation de la fréquence cardiaque augmente le risque de progression de l'athérosclérose (Palatini, 1999; Beere et coll., 1984), des arythmies ventriculaires (Podrid et coll., 1990), de l'ischémie du myocarde (Palatini et Julius, 1997) et de la rupture de la plaque dans les syndromes coronariens aigus (Heidland et Strauer, 2001) chez les individus avec maladie coronarienne. La variabilité cardiaque également appelée fréquence cardiaque correspond à la variation entre deux battements du cœur sur une période de temps donné. Elle apparaît comme un bon reflet de la capacité du cœur à moduler son rythme en fonction des sollicitations externes et internes (Servant et coll., 2009). Elle est régulée par le système nerveux autonome (SNA) et constitue la méthode largement utilisée pour mesurer l'activité cardiaque autonome chez l'homme. Car une diminution de la variabilité cardiaque semblerait traduire une diminution du tonus vagal et une activation du système sympathique chez les patients dépressifs traduirait une perturbation des mécanismes physiologiques émotionnels (Servant et coll., 2009).

L'un des mécanismes impliqués dans l'association entre la dépression et les maladies cardiovasculaires semble être l'élévation de la pression artérielle systémique induite par la hausse du niveau de la noradrénaline et l'augmentation du tonus sympathique qui

caractérise les patients dépressifs (Rozanski et coll., 1988). La variabilité du rythme cardiaque est un des facteurs d'adaptation chez le sujet en bonne santé cardiovasculaire et un haut degré de variabilité est retrouvé chez le sujet jeune en bonne santé; sa réduction est corrélée avec la réduction de la survie cardiovasculaire chez les patients déprimés.

Chez l'homme, il a été montré que la dépression est associée avec une variété de troubles vasculaires en commençant par une simple élévation de la pression artérielle moyenne (Reiff et coll., 2001; Shinn et coll., 2001). L'enregistrement ambulatoire de la pression artérielle a révélé une variabilité du rythme cardiaque chez les sujets qui développaient des épisodes de dépression (Gorman et Sloan, 2000; Witton, 1966). Les études ont montré une réduction de la variabilité cardiaque chez les patients déprimés avec maladie cardiaque (Carney et coll., 1988), ce qui suggère que la dépression pourrait être associée avec des changements dans la balance sympathique et parasympathique (Frasure-Smith et coll., 1995). De plus, si l'entraînement du système nerveux sympathique est augmenté ou si le tonus vagal est diminué, la dépression pourrait être fortement proarythmogène chez les patients à risque d'arythmies ventriculaires (Frasure-Smith et coll., 1995).

Les connexions neurohumorales qui lient les centres cérébraux avec le système vasculaire pourraient expliquer les phénomènes comme la fréquence cardiaque et les variations de pression pulsatile (Shinagawa et coll., 2002). Par exemple, l'altération de la régulation de la sérotonine, un neurotransmetteur essentiel permettant la modulation normale du réflexe vagal de la fréquence cardiaque, est typique de la dépression (Hildreth et coll., 2008). En conséquence, une faible variabilité de la fréquence cardiaque suggère un tonus sympathique excessif ou un tonus parasympathique insuffisant caractéristique de la dépression (Stein et coll., 2000; Bigger et coll., 1993).

2.3.2. Dysfonctionnement des baroréflexes

Les barorécepteurs (ou baroreflexes) sont localisés dans la crosse aortique et le sinus carotidien et servent à la régulation de la pression sanguine en affectant le débit cardiaque et la vasoconstriction. Les baroréflexes artériels sont modulés par le système nerveux autonome et les mécanismes de régulation cardiovasculaire. Une faible variabilité de la fréquence cardiaque altère la sensibilité des baroréflexes prédisant les événements cardiaques comme les arythmies ventriculaires (Schwartz et coll., 1988) et la mort subite (LaRovere et coll., 2001). De plus, une sensibilité faible des baroréflexes peut contribuer à la mortalité cardiovasculaire à travers une réduction de l'activité parasympathique aussi bien qu'une augmentation de l'activité sympathique (Grippe et Johnson, 2002). Une altération (réduction) de la sensibilité des baroreflexes a d'ailleurs été rapportée chez les patients cardiaques souffrant de dépression (Watkins et Grossman, 1999). De plus, Pitzalis et coll. (2001) ont trouvé une réduction de la fonction des baroréflexes chez les groupes de patients non médicalisés après un IM et avec dépression. Il est donc possible que le système nerveux autonome contribue à la réduction de la sensibilité des baroréflexes chez les patients souffrant de maladies coronariennes et de ce fait pourrait augmenter le risque d'événements cardiaques (Carney et coll., 2005).

2.3.3. Repolarisation ventriculaire

En électrocardiographie le temps de repolarisation ventriculaire est représenté par l'intervalle QT. Des études ont montré que la variation de l'intervalle QT reflétait les fluctuations battement par battement dans le temps de récupération du cœur, et qu'une augmentation de la variabilité était un prédicateur significatif des événements arythmiques et de mort subite (Atiga et coll., 1998; Bonnemeier et coll., 2001). De plus, Carney et coll. (2003) ont montré que la variabilité de l'intervalle QT était significativement plus élevée

chez les patients dépressifs que chez les sujets témoins non dépressifs. La différence dans la variabilité de l'intervalle QT entre les patients dépressifs et les sujets témoins était significativement plus élevée tôt le matin, juste après 6 heures; ce qui pourrait augmenter le risque d'arythmies et de mort subite chez ces patients durant cette période de temps où le risque est très élevé (Carney et coll., 2005).

2.3.4. Hémococoncentration

L'hémococoncentration résultant de la pression hydrostatique capillaire accrue et une baisse du volume plasmatique ont été suggérés comme mécanismes potentiels additionnels reliant les maladies cardiovasculaires et la dépression. Diversement dénommé stress d'hémococoncentration, stress de polyglobulie, polyglobulie relative, pseudopolyglobulie ou fausse polyglobulie, ce phénomène se produit fréquemment chez les patients présentant des symptômes dépressifs et est principalement dû à l'activation du système nerveux sympathique et à la libération des catécholamines pendant un stress psychologique (Allen et Patterson, 1995). Il est largement reconnu que la perfusion systémique des catécholamines pourrait augmenter à la fois la pression hydrostatique systémique et capillaire, résultant en une filtration accrue du liquide hors du plasma dans l'espace interstitiel et parallèlement la hausse de l'hématocrite (Finnerty et coll., 1958). Il a également été observé que la noradrénaline pouvait augmenter le tonus veineux, qui à son tour produisait une augmentation du ratio de résistance postcapillaire vers une résistance précapillaire. Une augmentation de la pression hydrostatique capillaire pourrait forcer le liquide à sortir hors du compartiment intravasculaire et réduire le volume plasmatique (Cohn, 1966). Une autre influence potentielle sur les changements du volume plasmatique serait le facteur natriurétique des oreillettes ("*Atrial Natriuretic Factor ANF*"). Ce peptide est principalement produit dans les oreillettes, mais sa production dans le cerveau a également été rapportée, en particulier dans l'hypothalamus et les noyaux du tronc cérébral, où il

agirait comme un neuropeptide et comme un régulateur potentiel de la production du liquide céphalo-rachidien (Johanson et coll., 2006). La libération accrue de ce peptide pourrait être une conséquence du stress mental dans les attaques de panique, la dépression et les troubles anxieux par exemple (Arlt et coll., 2003) et a de nombreux effets cardiovasculaires, y compris la diminution du retour veineux, la diminution du débit cardiaque et une diminution de la pression artérielle (Maack, 1996; Silver, 2006).

2.3.5. Dysfonction endothéliale

La dysfonction endothéliale est définie comme une diminution de l'état vasoactif, anticoagulant et anti-inflammatoire résultant d'une déficience de la biodisponibilité de l'oxyde nitrique (NO) dans l'endothélium (Rybakowski et coll., 2006). Plusieurs données suggèrent une association entre la dépression et une altération de la fonction endothéliale (Broadley et coll., 2002; Rajagopalan et coll., 2001; Sherwood et coll., 2005). Rybakowski et coll. (2006) ont montré que la dysfonction endothéliale évaluée au moyen de la technique d'analyse de l'onde de pouls pourrait constituer un marqueur de trait de la composition biologique des patients atteints de troubles de l'humeur, contribuant à la fréquence accrue de maladies cardiovasculaires observée chez ces patients. L'altération fonctionnelle de l'endothélium, à savoir l'altération de la réponse hyperémique à l'occlusion artérielle expérimentale brachiale était également présent chez les patients souffrant de troubles dépressifs majeurs par rapport aux sujets contrôles sains (Broadley et coll., 2002; Rybakowski et coll. 2006; Broadley et coll., 2006). De plus, selon Wagner et coll. (2006), une histoire de dépression, même en rémission complète, est associée à une déficience de la réponse hyperémique suggérant que la dépression continuerait d'être liée au dysfonctionnement endothélial pendant des années après la rémission de la dépression. Des études récentes suggèrent que la voie de l'oxyde nitrique de la L-arginine (NO) offrant de nombreuses fonctions physiologiques y compris une vasodilatation, la neurotransmission,

et l'inhibition de l'agrégation plaquettaire pourrait être altérée et donc impliquée dans la genèse de la dépression (Pinto et coll., 2008).

2.3.6. Activation plaquettaire

Les plaquettes jouent un rôle fondamental dans le développement de l'hémostase, de l'athérosclérose, de la thrombose et des syndromes coronariens aigus (Lefkovits et coll., 1995). Les plaquettes sanguines contribuent à augmenter le risque de développer un IM chez les patients dépressifs et ainsi augmenter le risque de morbidité (Bruce et Musselman, 2005). De plus, les catécholamines augmentent l'agrégation plaquettaire et le risque de thrombose coronarienne (Markovitz et Matthews, 1991). Ainsi, l'agrégation plaquettaire joue un rôle crucial dans l'IM, l'angine instable et dans l'athérosclérose (Markovitz et Matthews, 1991; Trip et coll., 1990). Musselman et coll. (1996) ont montré que les patients déprimés avaient 41% plus de réponses et d'activation plaquettaire que les patients non déprimés. De plus, Laghrissi-Thode et coll. (1997) ont montré que les concentrations du facteur plaquettaire 4 (PF4) et la β -thromboglobuline (BTG), deux protéines qui sont sécrétées par les granules alpha des plaquettes activées étaient élevées chez les patients déprimés avec maladie coronarienne que chez les personnes en santé et chez les patients non déprimés avec maladie coronarienne. Finalement, l'agrégation plaquettaire pourrait contribuer à la genèse de l'athérosclérose et ainsi augmenter le risque d'évènements cardiaques chez les patients déprimés.

Par ailleurs, il a été montré que les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) comme la sertraline exercent des effets bénéfiques sur la réactivité des plaquettes en diminuant significativement les concentrations plasmatiques des E-sélectines qui constituent des composants de la réponse inflammatoire et qui peuvent être libérés à la fois par les plaquettes et l'endothélium vasculaire (Bruce et Musselman, 2005).

2.3.7. Dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalien

L'axe HHS est un système physiologique impliqué dans la réponse au stress. En réponse à un stress, les neurones hypothalamiques augmentent la synthèse et la libération de la corticotropine (CRH) qui entraîne la sécrétion de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). L'ACTH et le système nerveux sympathique envoient un signal aux glandes surrénales qui sécrètent dans la circulation sanguine les glucocorticoïdes et les catécholamines. Dans les conditions physiologiques normales, les glucocorticoïdes en retour exercent un rétrocontrôle négatif sur l'hypophyse, l'hippocampe et l'hypothalamus.

Les changements endocriniens et autonomes dans la dépression impliquent : 1) un excès de la sécrétion de cortisol, 2) un défaut du rétrocontrôle négatif de la régulation des glucocorticoïdes, 3) un excès de la concentration du CRH et de l'ACTH et des catécholamines. Ainsi il a été montré chez les patients dépressifs une augmentation du niveau de CRH dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (Raadsheer et coll., 1995). La noradrénaline agit sur les récepteurs β -adrénergiques et augmentent le rythme cardiaque et la contractilité. Il est donc possible que la dépression soit associée avec une altération de la fonction de l'axe HHS et une élévation de l'activité du système nerveux sympathique qui en retour pourraient conduire à la dérégulation cardiovasculaire (Grippe et Johnson, 2002).

2.3.8. Altération dans la réponse immunitaire – Inflammation

Les maladies coronariennes sont de plus en plus connues comme une réponse inflammatoire aiguë aux dommages de l'endothélium vasculaire (Ross, 1999; Berliner et coll., 1995). Les cytokines proinflammatoires sont associées à la manifestation des troubles psychiatriques (Plata-Salaman, 1998). Des études suggèrent une association de la

dépression avec une dérégulation des médiateurs immunitaires comme une augmentation de l'IL-1 β , de l'IL-6, du récepteur soluble de l'IL-6, de l'IL-2 et du récepteur soluble de l'IL-2 (Sluzewska et coll., 1996; Maes et coll., 1993). De plus, il a été rapporté une augmentation du niveau des récepteurs solubles de l'IL-1 chez les patients souffrant de dépression majeure (Maes et coll., 1997). La dépression peut contribuer au début de ce processus par le déclenchement des dommages récurrents de l'endothélium, par dérèglement des systèmes neurohormonaux responsables de la sécrétion du cortisol et des catécholamines (Plotsky et coll., 1995), ou par augmentation de la susceptibilité aux infections avec des agents pathogènes latents envahissant les vaisseaux sanguins (Herbert et Cohen, 1993). Ross (1999) suggère que chacun de ces processus pourrait endommager l'endothélium déclenchant ainsi un processus inflammatoire qui contribue à la progression de l'athérosclérose. Plusieurs études ont montré que chez des adultes médicalement sains, la dépression était accompagnée de niveaux élevés d'IL-6 circulants, de la protéine-C réactive et du TNF- α (Dentino et coll., 1999; Maes et coll., 1997) qui, tous, constituent des marqueurs de la réponse inflammatoire, de la morbidité et de la mortalité (Danesh et coll., 2000; Ridker et coll., 2000). De plus, il est possible que la dépression participe au maintien de la réponse inflammatoire par diminution de la sensibilité du système immunitaire aux glucocorticoïdes qui sont responsables d'inhiber la réponse inflammatoire. Finalement, il a été suggéré qu'une hypersécrétion des cytokines soit impliquée dans la physiopathologie de la dépression (Leonard, 2001); qui elle-même serait impliquée dans l'avènement des événements cardiaques. Ce qui sera discuté plus en détail dans le chapitre qui suit et qui porte sur les cytokines.

Chapitre 3 : Les cytokines

Les cytokines sont un groupe hétérogène de protéines solubles à action brève, des glycoprotéines et des peptides produits par différentes cellules immunitaires et vasculaires et agissent à des concentrations allant de l'ordre du picomolaire au nanomolaire pour activer des récepteurs spécifiques et moduler les fonctions de nombreuses cellules et de tissus. Ce sont des protéines régulatrices sécrétées par les globules blancs (lymphocytes et monocytes ou macrophages) du sang et d'une grande variété d'autres cellules (cellules somatiques) de l'organisme (O'Brien et coll., 2004). Elles sont multipotentes et exercent des effets pléiotropes à activités biologiques multiples non seulement dans le fonctionnement du système immunitaire, mais aussi celui du système nerveux central (SNC) (Thompson, 1991, Oprica et coll., 2005). De plus, elles participent à toutes les réponses immunitaires de l'organisme afin d'aider celui-ci à se débarrasser des agents pathogènes et à maintenir l'homéostasie. Elles sont reconnues comme étant des médiateurs importants intervenant dans plusieurs aspects de l'inflammation.

Les cytokines sont des molécules peptidiques (poids moléculaire : 8-60 kilodaltons (kD)) qui régulent la croissance, la différenciation et le fonctionnement de plusieurs types cellulaires (Turnbull et Rivier, 1999). Elles modulent également plusieurs aspects de l'immunité, de l'inflammation et de l'hématopoïèse. Elles sont produites en réponse à des stimuli spécifiques provenant de l'activation du système immunitaire. Généralement, elles agissent en se liant aux récepteurs membranaires spécifiques et en activant les seconds messagers à faibles concentrations sur de courtes distances et dans un temps très court. Elles peuvent aussi agir localement et à distance.

Certaines cytokines peuvent être liées à la membrane ou être associées à la matrice extracellulaire, et alterner entre les formes solubles et membranaires, ce qui pourrait être un élément important de la régulation (Sprague et Khalil, 2009). Différents types cellulaires peuvent sécréter la même cytokine et une seule cytokine peut agir sur plusieurs types cellulaires (pléiotropie) et produisant de multiples activités biologiques en fonction du type de cellule, du temps et du contexte (Hirano, 1999) ou produire des cytokines

supplémentaires. Les cytokines sont aussi redondantes dans leur activité, ce qui signifie des fonctions similaires pourrait être stimulées par des cytokines différentes (*cross-talk*) (Ozaki et Leonard, 2002). À cause du "chevauchement fonctionnel" des cytokines, leur rôle physiopathologique peut être difficile à évaluer. En outre, les cytokines sont souvent produites dans une cascade d'évènements exerçant des modes d'action variée : autocrines (lorsqu'elles agissent sur les cellules qui les sécrètent), paracrines (lorsqu'elles agissent sur les cellules voisines de celles qui les sécrètent) et endocrines (lorsqu'elles agissent sur les cellules éloignées de celles qui les sécrètent) (Sprague et Khalil, 2009). Les cytokines peuvent également agir de manière synergique (deux ou plusieurs cytokines agissant de concert) ou antagoniste (cytokines causant des activités opposées).

3.1. Classification et dénomination des cytokines

Les dénominations des cytokines tiennent compte des cellules qui les sécrètent ou de leurs activités biologiques. Ainsi on distingue :

1. Les facteurs de nécrose tumorale ou "Tumor necrosis factors" (TNFs) comprenant le TNF- α et - β ;
2. Les interleukines (ILs), sont des cytokines produites par un leucocyte et agissant sur d'autres leucocytes;
3. Les lymphokines, sont des cytokines produites exclusivement par les lymphocytes;
4. Les monokines, sont des cytokines produites exclusivement par les monocytes;

5. Les interférons (IFNs), sont des cytokines impliquées dans les réponses antivirales et comprenant l'IFN- α , - β et - γ ;

6. Les facteurs de stimulation des colonies ou "*Colony stimulating factors* (CSFs)", sont des cytokines initialement produites pour supporter la croissance cellulaire dans la media semi-solide et comprenant le facteur de stimulation de colonies granulocytaires ou "*Granulocyte-colony stimulating factors* (G-CSF)", le facteur de stimulation des colonies monocytaires ou "*Monocyte-colony stimulating factors* (M-CSF)" et le facteur de stimulation des colonies granulocytaires et monocytaires ou "*Granulocyte-Monocyte-colony stimulating factors* (GM-CSF)".

7. Les facteurs de transformation de croissance ou "*Transforming growth factors* (TGFs)", comprenant le TGF- β 1, 2 et 3, les protéines morphogénétiques de l'os ou "*Bone morphogenetic proteins* (BMPs)", les activines et les inhibines.

8. Les chimiokines, sont des cytokines ayant des activités chimiotactiques. Elles recrutent, activent et retiennent les leucocytes au site local de l'inflammation. La superfamille des chimikines est divisée en quatre sous-familles basées sur la présence de la conservation d'un résidu NH2 terminal et d'une région variable "X" (Murphy et coll., 2000).

a. la sous-famille XC attirant les lymphocytes.

b. la sous-famille CC recrutant principalement les cellules mononucléaires.

c. la sous-famille CXC est subdivisée sur la base de la présence d'une séquence d'acide glutamique-leucine-arginine (motif ELR) près du NH2 terminal. Les motifs ELR+ de cette sous-famille sont des neutrophiles chimioattractants avec des propriétés angiogéniques tandis que les motifs ELR- sont des lymphocytes chimioattractants avec des propriétés angiogéniques.

d. la sous-famille CX3C comprend CX3CL1 (fractalkines), chimiokines pouvant avoir plusieurs noms comme IL-8 (CXCL8), le facteur plaquettaire-4 (PF-4/CXCL4), les protéines inflammatoires de macrophage MIP-1 α (CCL3) et MIP-1 β (CCL4), les RANTES ou "*regulated on activation normal T-expressed and secreted*", CCL5" et les protéines chimioattractantes du monocyte MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 et MCP-4 (Luster, 1998).

Dépendamment de leur source cellulaire, les cytokines sont classées en:

9. Cytokines de type 1: produites par les cellules Th1 T-helper et comprenant l'IL-2, l'IL-12, l'IFN- γ , et le TNF- β . Les cytokines Th1 tendent à piloter des réponses inflammatoires cellulaires incluant l'activation des macrophages.

10. Cytokines de type 2: produites par les cellules Th2 T-helper et comprenant l'IL-4, l'IL-5, l'IL-6, l'IL-10 et l'IL-13. Les cytokines Th2 jouent un rôle dans des processus inflammatoires distincts, particulièrement dans les allergies et l'asthme (Gordon, 2003).

Toutes ces cytokines peuvent être groupées selon plusieurs facteurs comme leurs activités biologiques communes, les récepteurs de surfaces communs ou la similarité des mécanismes de transduction du signal cellulaire. D'après ce type de regroupement, on distingue les cytokines pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. La réponse inflammatoire nette peut être déterminée non seulement par la balance entre les cytokines pro et anti-inflammatoires, mais aussi par le temps de libération des cytokines, l'environnement local dans lequel elles sont libérées, la présence de facteurs synergiques ou compétitifs, la densité des récepteurs des cytokines et la réponse du tissu à chaque cytokine (Sprague et Khalil, 2009).

11. Les cytokines proinflammatoires sont principalement produites par l'activation des macrophages et impliquées dans la régulation à haute vitesse des réactions inflammatoires et peuvent agir en tant que médiateur des effets suivants:

- a. Pyrogènes endogènes comme le $\text{TNF-}\alpha$ et l'IL-6;
- b. Régulation à haute vitesse des réactions inflammatoires comme le $\text{TNF-}\alpha$, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-19 et l'IFN- β ;
- c. Stimulation des réactants de la phase aiguë comme le $\text{TNF-}\alpha$, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-11, l'IFN- γ et le $\text{TGF-}\beta$;
- d. Chimioattractants comme l'IL-8, le MIP-1 α , le MIP-1 β , les RANTES, le PF-4, le MCP-1, le MCP-2 et le MCP-3;
- e. Stimulants des cytokines proinflammatoires comme l'IL-12.

12. Les cytokines anti-inflammatoires servent à amenuiser la réponse immunitaire et à empêcher la production d'éventuelles cytokines (Kiecolt-Glaser et Glaser, 2002). Elles comprennent l'IL-4, l'IL-10, l'IL-13, l'IFN- α et le $\text{TGF-}\beta$. L'inflammation initiée par les cytokines proinflammatoires sert à aider l'organisme à éliminer les agents pathogènes par l'action des cytokines anti-inflammatoires.

3.2. Source des cytokines

Les cytokines sont produites en réponse aux stimuli inflammatoires principalement par les macrophages et les cellules Th1, mais aussi produites par d'autres cellules inflammatoires aussi bien que les cellules vasculaires et les adipocytes. Les macrophages produisent les cytokines proinflammatoires comme le $\text{TNF-}\alpha$, l'IL-1, l'IL-6, l'IL-12, l'IL-15, l'IL-18 et l'IL-32, mais aussi les cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10 et le $\text{TGF-}\beta$. Une boucle d'activation autocrine chez les macrophages peut impliquer l'autostimulation par l'IL-12 et l'IL-18 à produire l'IFN- γ . Les macrophages expriment aussi plusieurs

chimiokines comme le MCP-1/CCL2, MCP-4/CCL13 et l'IL-8/CXCL8 (Tedgui et Mallat, 2006). Les cellules T sécrètent nombreuses cytokines y compris l'IFN- γ et l'IL-4.

Les plaquettes sont une source importante de cytokines, chimiokines et de facteurs de croissance. Ces facteurs sont empaquetés dans les granules de stockage α et libérés durant l'activation plaquettaire. Par exemple, l'IL-1 β est produite par les plaquettes après l'activation par la thrombine. Les plaquettes sécrètent aussi les chimiokines comme le PF4/CXCL4, le MIP-1/CCL3 et les RANTES/CCL5 (McNicol et coll., 2008).

Les cellules de la paroi vasculaire sont à la fois une source et une cible des cytokines. Les cellules endothéliales produisent l'IL-1 α et l'IL-1 β tandis que les cellules vasculaires du muscle lisse produisent le TNF- α , l'IL-1 α et l'IL-1 β .

3.3. Triade : Infarctus du myocarde - Cytokines - Dépression

Les récents progrès enregistrés dans le domaine de la psychoneuroimmunologie suggèrent que la dépression majeure peut modifier la fonction immunitaire. Réciproquement, les anomalies de système immunitaire peuvent jouer un rôle dans l'étiologie de la dépression (Maes et coll., 1993). La fonction du système immunitaire chez les patients déprimés implique à la fois l'hyperactivité des cytokines pro-inflammatoires des cytokines anti-inflammatoires (Grippo et Johnson, 2002). Comme rapporté plus haut, 65% des patients avec un IM développent des symptômes dépressifs, mais seulement 15-22% de ceux-ci vont développer la dépression majeure (Guck et coll., 2001). Les composantes comme les différences individuelles, l'âge des patients, la circulation collatérale, le comportement alimentaire, la taille de l'infarctus ainsi que l'influence des facteurs génétiques, environnementaux et sociaux peuvent contribuer de manière significative à leur sort. De plus, l'infarctus du myocarde est associé à un dérèglement de la fonction immunitaire. Comme décrite en détail dans le Chapitre 2, l'ischémie survient

lorsque la circulation sanguine dans les artères coronaires est interrompue et conduit à la nécrose du tissu cardiaque. Lorsque l'ischémie persiste, des changements irréversibles peuvent survenir comme l'altération de l'intégrité des membranes biologiques et la libération des substances intracellulaires. Ceci conduit à des réactions inflammatoires (Chatelain et coll., 1987; Yu et coll., 2003). La reperfusion du tissu ischémique accélère cette réaction par la libération rapide des substances chimiotactique et inflammatoire. L'IM est aussi associé à une grande production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-8) par les monocytes, les cellules inflammatoires infiltrant la zone limite, les cardiomyocytes et les cellules endothéliales (Pudil et coll., 1999). Suite à l'IM, on observe une synthèse des cytokines proinflammatoires incluant le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 par le cœur et une augmentation des niveaux plasmatiques de ces cytokines (Francis et coll., 2004). Ces cytokines vont en retour stimuler le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus induisant la synthèse et la sécrétion des glucocorticoïdes (Turnbull et Rivier, 1995). Cette augmentation de la concentration plasmatique des cytokines proinflammatoires comme l'IL-1 et l'IL-6 observée chez les patients souffrant de dépression est corrélée avec la sévérité des troubles psychiatriques et l'hyperactivité de l'axe HHS (Maes, 1995; 1999). Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que la dérégulation du système immunitaire précède le développement de la dépression (Sakic et coll., 1996; Yirmiya, 1996; Yirmiya et coll., 2000). Ceci correspondrait bien au délai d'apparition des symptômes dépressifs (anhédonie et détresse comportementale) observés dans notre modèle animal, mais demeure à être investigué plus en détail.

Les caractéristiques de l'activation du système immunitaire dans la dépression incluent une augmentation du nombre des lymphocytes circulants et des cellules phagocytaires augmentant le niveau des indicateurs dans le sérum des cellules immunitaires activées, des concentrations élevées des protéines de la phase aigüe ainsi qu'une augmentation de la libération des cytokines proinflammatoires (Maes et coll., 1995; Maes, 1999; Irwin, 1999; Nunes et coll., 2002; Tuglu et coll., 2003). On observe chez ces patients une augmentation du nombre des globules blancs et du niveau plasmatique des cellules

immunitaires activées comme les prostaglandines E2, les protéines du complément, les protéines de la phase aigüe et les cytokines proinflammatoires (Maes, 1995; Zorrilla et coll., 2001; O'Brien et coll., 2004). De plus, la dépression est associée à une augmentation de la sécrétion du facteur de libération de la corticotropine (CRF), la sécrétion excessive d'IL-1 β , du TNF- α et d'IFN- α qui sont toutes des cytokines pro-inflammatoires impliquées dans la réponse immunitaire non spécifique (Maes et coll., 1993; Smith, 1991; Maes, 1995; Seidel et coll., 1999) et une hyperactivité de l'axe HHS (Connor et Leonard, 1998). L'IL-1, l'IL-6, l'interféron et le TNF ont une action activatrice de l'axe HHS. L'administration de TNF- α chez l'humain conduit à l'apparition de symptômes dépressifs comme la fatigue, la léthargie et l'anorexie (Spriggs et coll., 1988). L'administration d'INF- α conduit à des changements comportementaux tels que l'irritabilité, l'anorexie, la fatigue et le retard psychomoteur qui miment un état dépressif (Niiranen et coll., 1988). De la même façon, il a été montré que l'administration d'IL-1 β induit des troubles d'appétit et psychomoteurs, des troubles du sommeil et de la léthargie (Cunningham et De Souza, 1993). En outre, pendant l'infection, il y a un besoin accru de sommeil (Krueger et coll., 1984). Des patients ayant reçu une injection contrôlée d'endotoxine avaient des manifestations d'anxiété, des modifications de l'humeur et une baisse des capacités de mémorisation, parallèlement à une élévation des concentrations sériques des cytokines proinflammatoires (Reichenberg et coll., 2001). Les traitements thérapeutiques effectués chez les rongeurs avec les cytokines proinflammatoires induisent un comportement de maladie ("*sickness behavior*") qui est similaire avec plusieurs aspects de la dépression humaine dont la diminution de l'appétit, l'anorexie, la perte de poids, la fatigue, la perte de la libido, les troubles du sommeil et la réduction du rapport social (Yirmiya et coll, 2000; Dantzer, 2001).

Il a été montré la présence des récepteurs de différentes cytokines dans les structures du système limbique. Ceux de l'IL-1 sont retrouvés dans l'hypothalamus et l'hippocampe, ceux de l'IL-6 sont situés dans l'hippocampe, l'hypothalamus, le gyrus dentelé et le cortex piriforme (Vitkovic et coll., 2000). Quant aux récepteurs du TNF, ils sont localisés dans l'hippocampe, le cortex, l'amygdale, les noyaux de la base (Vitkovic et coll., 2000) et sont

aussi exprimés par les oligodendrocytes (Tchélingérian et coll., 1995). L'IL-1 inhibe la potentialisation à long terme (LTP), phénomène de sensibilisation synaptique associé aux mécanismes d'apprentissage et de mémorisation (Jacque et Thurin, 2002). Une diminution du volume de l'hippocampe, de l'amygdale et du cortex préfrontal fait partie des signes neuropathologiques récemment décrits dans la dépression (Strakowski et coll., 2002; Drevets, 2000; Sapolsky, 1996). La rémission des symptômes dépressifs serait assurée par l'enzyme indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO). L'IDO constitue un lien entre le système sérotoninergique et l'activation du système immunitaire (Wirleitner et coll., 2003). Cette enzyme est localisée dans les organes non hépatiques à travers tout le corps et est aussi présente dans les monocytes, les macrophages et les cellules gliales et dans les parenchymes du cerveau (Dale et coll., 2000). L'activité de l'IDO est principalement induite par les cytokines proinflammatoires (IL-1, IFN- γ et TNF- α) qui ne stimulent pas seulement la neurotransmission sérotoninergique, mais aussi réduisent la production de la sérotonine par la stimulation de l'IDO qui convertit le tryptophane (précurseur de la sérotonine) en kynurenine (Russo et coll., 2003; Wirleitner et coll., 2003). Les cytokines proinflammatoires sont également impliquées dans l'altération du métabolisme de la sérotonine dans le système nerveux central (Dunn, 1992; Palazzolo et Quadri, 1992; Cho et coll., 1999). Une stimulation excessive de IDO conduit à une déplétion plasmatique de la concentration en tryptophane et par conséquent réduit la synthèse de sérotonine dans le cerveau (Wichers et Maes, 2002; Heyes et coll., 1992). Nous savons qu'il est bien établi qu'une déplétion de sérotonine est un des éléments majeurs dans le trouble dépressif et que les antidépresseurs de la classe des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) tendent à rétablir le niveau de sérotonine dans le cerveau. De plus, certaines études ont montré que les antidépresseurs suppriment l'action des cytokines proinflammatoires (Bengtsson et coll., 1992; Xia et coll., 1996). D'autres études ont quant à elles montré que les cytokines proinflammatoires comme l'IL-1, l'IFN- α , IFN- γ et TNF- α augmentent la régulation du transporteur de la sérotonine causant une déplétion extracellulaire de sérotonine (Wichers et Maes, 2002; Morikawa et coll., 1998; Mossner et coll., 1998;

Ramamoorthy et coll., 1995), alors que IL-4 (cytokine anti-inflammatoire) induit une réduction de la recapture de sérotonine (Mossner et coll., 2001). L'impact de l'IL-4 sur les niveaux synaptiques est similaire à celle des antidépresseurs conventionnels, c'est-à-dire l'augmentation du niveau de la sérotonine (O'Brien et coll., 2004). Tout médicament ou substance qui entraîne une augmentation de l'activité sérotoninergique exerce généralement un effet antidépresseur, car la sérotonine est impliquée dans la physiopathologie du trouble dépressif. Il n'est donc pas étonnant de voir qu'une inhibition des cytokines pro-inflammatoires soit non seulement bénéfiques pour la rémission des symptômes dépressifs, mais aussi pour réduire l'inflammation causée par l'infarctus du myocarde.

Comme on vient de le voir plus haut, l'IM entraîne des changements importants en périphérie notamment dans la fonction immunitaire avec une augmentation de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires circulantes. Tenant compte de leurs structures et de leurs dimensions, leur diffusion à travers la barrière hématoencéphalique semble improbable. Cependant, les médiateurs solubles libérés par les cellules immunitaires peuvent affecter le fonctionnement du SNC et produire des altérations du comportement. Dans notre modèle, nous suspectons ces cytokines proinflammatoires d'être en partie à l'origine du trouble dépressif en affectant le bon fonctionnement du SNC par au moins l'un des mécanismes suivants:

3.3.1. Entrée via les organes circumventriculaires

Les cytokines produites en périphérie peuvent agir principalement sur le SNC à travers les organes circumventriculaires, particulièrement via le "*organum vasculosum of the laminae terminalis* (OVLT)". Les organes circumventriculaires sont des parties du cerveau qui sont dépourvues de barrière hématoencéphalique fonctionnelle (Rothwell et Hopkins, 1995). Au niveau de l'OVLT, les cytokines se lient aux cellules gliales qui en retour produisent des cytokines et d'autres médiateurs comme les prostaglandines, particulièrement la prostaglandine E2 (PGE₂). Des études utilisant une microdialyse in vivo

ont montré qu'une administration d'IL-1 β élevait les concentrations de PGE₂ dans plusieurs structures du cerveau. Ceci était maximal et rapide aux OVLT et à l'aire préoptique médiane et de manière intéressante cette augmentation de PGE₂ précède le début de la fièvre (Komaki, 1992). De plus, il a été montré qu'une administration périphérique de lipopolysaccharide (LPS) induit l'expression de l'ARNm de l'IL-1 β , de l'IL-6 et du TNF- α dans le SNC (Dantzer, 1994) suggérant que non seulement la production périphérique des cytokines peut agir sur le SNC mais aussi peut induire la production de cytokines dans le cerveau modulant directement le fonctionnement du SNC (Connor et Leonard, 1998).

3.3.2. Entrée via un mécanisme de transport actif

Des études ont aussi démontré que l'IL-1 β agit non seulement sur les OVLT, mais aussi peut traverser la barrière hématoencéphalique via un mécanisme de transport actif (Banks et coll., 1989; Banks et coll., 1991). Gutierrez et coll. (1993) ont établi un mécanisme de transport actif du TNF- α à travers la barrière hématoencéphalique. Ce mécanisme de transport actif pourrait être une importante voie d'entrée des cytokines lorsque les concentrations de ces dernières sont très élevées (Banks et coll., 1989; Banks et coll., 1991).

3.3.3. Entrée via le nerf vague

En plus de ces deux voies d'entrée des cytokines dans le SNC, des évidences suggèrent l'existence de mécanismes de médiation de la communication neuronale entre les cytokines produites en périphérie et le SNC (Dantzer, 1994). Cette communication se ferait via le nerf vague et supporté par le fait qu'une vagotomie subdiaphragmatique atténue les effets dépressifs sur le comportement induit par les endotoxines, l'expression de c-fos dans le SNC et l'expression de l'ARNm de l'IL-1 β dans l'hypothalamus (Dantzer, 1994). De plus, des études ont rapporté que la vagotomie subdiaphragmatique bloquait l'activation de l'axe

HHS produite par l'administration périphérique d'IL-1 β et de TNF- α (Fleshner et coll., 1995).

3.3.4. Production des cytokines par les cellules du SNC

Finalement, les cytokines pourraient affecter la neurotransmission du SNC via les récepteurs aux cytokines localisés à l'intérieur du SNC ou par la production des cytokines par les cellules du SNC décrit dans la section "Infarctus du myocarde, cytokines et dépression".

3.4. Cytokines, dépression et sommeil

Plusieurs études ont suggéré que la dépression est associée avec une dérégulation des médiateurs du système immunitaire comme une augmentation de l'IL-1 β , l'IL-6, du TNF- α , le récepteur soluble de l'IL-6 (IL-6R), l'IL-2 et le récepteur soluble de l'IL-2 (IL-2R) (Maes et coll., 1993; Sluzewska et coll., 1996). Il a été aussi rapporté une augmentation des niveaux de l'antagoniste du récepteur de l'IL-1 (IL-1Ra) chez les patients souffrant de dépression majeure (Maes et coll., 1997). Comme démontré plus haut, des études ont suggéré que la dérégulation du système immunitaire précéderait le développement de la dépression (Sakic et coll., 1996; Yirmiya, 1996; Pollak et coll., 2000) et la sévérité des troubles psychiatriques ainsi que l'hyperactivité de l'axe HHS corrélerait avec une augmentation de la concentration plasmatique des cytokines proinflammatoires. De plus, ces cytokines sont impliquées dans l'altération du métabolisme de la sérotonine dans le SNC (Dunn, 1992; Palazzolo et Quadri, 1992; Cho et coll., 1999), un des neurotransmetteurs impliqués dans la dépression.

Comme dans la dépression, de nombreuses études ont aussi montré l'implication des cytokines dans la régulation du sommeil et au cours d'une infection (Krueger et coll.,

1998). Les cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1 β et le TNF- α ont un rôle somnogénique (Krueger et coll., 1998) tandis que les cytokines anti-inflammatoires, IL-4 et IL-10 sont inhibitrices du sommeil (Jacque et Thurin, 2002). L'administration exogène d'IL-1 et de TNF par voie intrapéritonéale, intraveineuse ou intracérébroventriculaire induisait une augmentation du SOL chez des rats, des lapins et des souris (Krueger et coll., 1998). Toutefois, l'augmentation du SOL est très complexe et dépend de l'espèce, de la dose, de la voie d'administration et du moment de la journée (Krueger et coll., 1998). La figure qui suit (Figure 6) résume en partie ces relations.

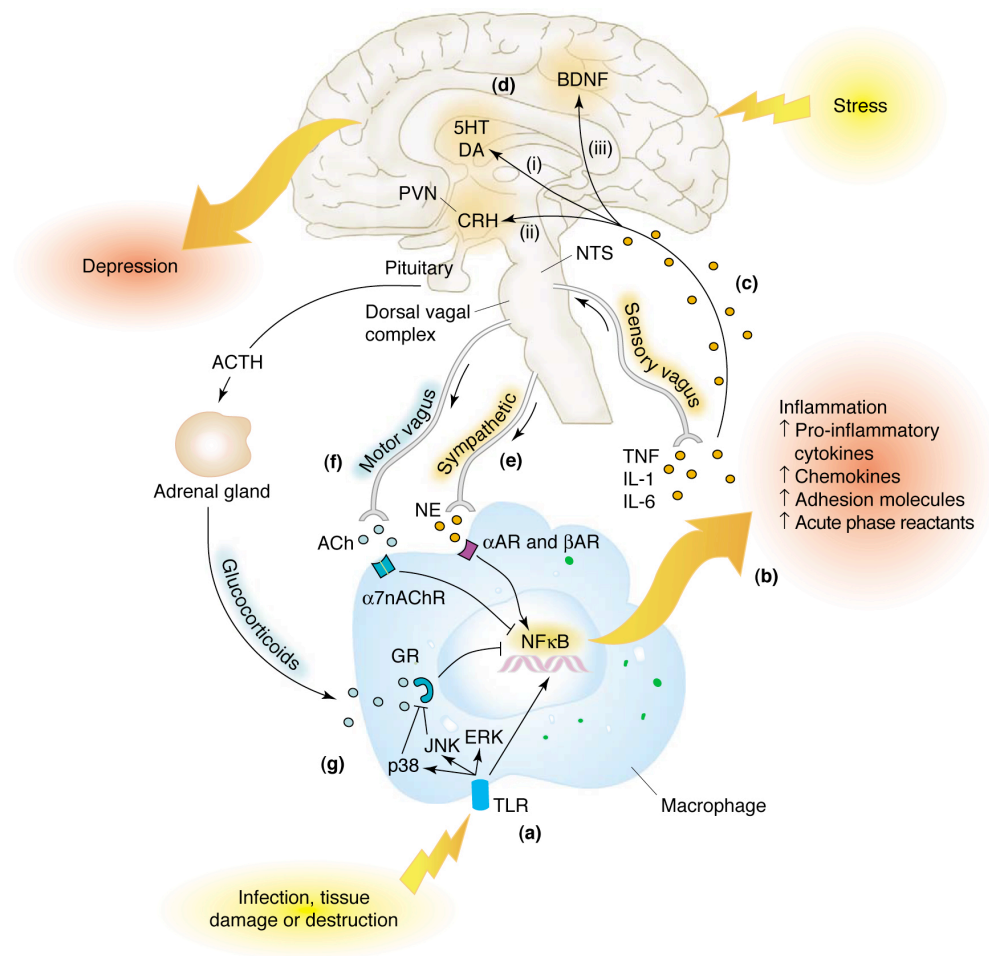


Figure 6: Schéma intégratif des interactions système immunitaire et le cerveau. D'après Raison et coll., 2006.

Chapitre 4 : Objectifs et hypothèses

Il a déjà été montré que suite à un IM, 15-30% de la population développe la dépression majeure dans les 6 à 8 mois suivants cet événement (Guck et coll., 2001). De plus, les travaux de mes collègues issus des laboratoires de Roger Godbout et Guy Rousseau ont montré que chez le rat suite à un IM on observait des changements comportementaux et biochimiques. Ces changements comportementaux se traduisaient par de l'anhédonie et de la détresse comportementale tandis que les changements biochimiques se traduisaient essentiellement par la mort cellulaire par apoptose dans le système limbique des rats. Tous ces changements observés avaient été prévenus par plusieurs traitements pharmacologiques. L'apoptose induite dans le système limbique des rats suivait un décours spatial et temporel et avait été aussi prévenue par les mêmes traitements pharmacologiques. Le TNF- α serait un composant majeur dans l'activation de la voie de signalisation extrinsèque conduisant à la mort cellulaire par apoptose observée dans le système limbique. L'objectif de cette thèse est de continuer la caractérisation du modèle animal de la dépression post-infarctus du myocarde pour mieux cerner sa physiopathologie.

Hypothèses

Après l'induction de l'IM chez le rat, nous nous attendons à ce que:

Hypothèse principale

H1: Les animaux ayant subi un IM présentent les syndromes comportementaux dépressifs post-infarctus, des troubles du sommeil à l'image d'autres modèles animaux de la dépression et une augmentation des facteurs induisant l'inflammation (cytokines) et une augmentation de l'hormone de stress.

Hypothèses sous-jacentes

Après deux semaines de reperfusion, les rats ayant subi un IM présenteront un syndrome dépressif traduit par:

H1.1. Une insomnie

Comparés aux rats témoins, les rats IM présenteront des difficultés d'initiation ou de maintien du sommeil.

H1.2. Une perturbation de l'architecture du sommeil

Comparés aux rats témoins, les rats IM montreront une augmentation de la latence au sommeil et une réduction de la latence au SP et une augmentation de la durée du SP.

H1.3. Une anhédonie

Les rats IM consommeront moins de solution sucrée que les rats témoins lors du test de préférence au sucrose;

H1.4. Une détresse comportementale

Les rats IM adopteront des stratégies plus passives (immobilité) que les rats témoins lors du test de nage forcée;

H1.5. Une suractivation du système immunitaire

Comparés aux rats témoins, les rats IM montreront une augmentation du niveau plasmatique des protéines suivantes :

H1.5.1. cytokines proinflammatoires en particulier l'IL-1 β , l'IL-6 et TNF- α ;

H1.5.2. la PGE₂ et la corticostérone (hormone de stress);

H1.6. Une remédiation due aux traitements pharmacologiques choisis

Les signes comportementaux de dépression, les troubles du sommeil, le niveau plasmatique des cytokines proinflammatoires, la PGE_2 et la corticostérone seront renversés par l'administration des composés pharmacologiques.

Chapitre 5 : Méthodologie

Dans cette section, nous ferons un bref survol de la méthodologie utilisée dans cette thèse afin d'éviter la redondance. Chacun des trois articles reprendra en détail la méthodologie utilisée dans la section intitulée "*Methods*".

Dans cette thèse, nous avons utilisé des rats mâles adultes de souche Sprague-Dawley provenant de chez Charles Rivers (St-Constant, Québec, Canada) et dont le poids à l'arrivée se situait entre 350-375g. Ces rats furent gardés en conditions normalisées d'animalerie. Après acclimatation, des électrodes intracérébrales furent implantées pour les enregistrements électroencéphalographiques. Puis nous avons induit un IM par l'occlusion de l'artère coronaire gauche pendant 40 minutes suivie d'une reperfusion jusqu'à la fin des expériences. L'analyse du sommeil et tous les tests comportementaux que sont le test de nage forcé mettant en exergue la détresse comportementale, le test de préférence au sucrose indicateur de l'anhédonie ont été réalisés à partir du jour 15 post-infarctus soit après deux semaines de reperfusion. Les traitements pharmacologiques réalisés dans les études furent administrés par deux voies différentes. Dans la deuxième étude, l'escitalopram et la saline furent administrés à l'aide de pompes osmotiques provenant de chez ALZET implantées dans le péritoine des animaux. Dans la troisième étude, la pentoxifylline et la saline furent administrées à l'aide d'injections journalières par voie intrapéritonéale.

À la fin des expériences, les animaux furent sacrifiés par décapitation. Le cœur fut rapidement excisé pour déterminer la taille de l'infarctus. Dans certains cas, le cerveau fut disséqué en différentes structures pour les analyses biochimiques ultérieures et dans d'autres cas perfusés pour l'analyse immunohistochimique. Des échantillons sanguins furent prélevés et le plasma fut collecté pour le dosage biochimique des protéines du système immunitaire et de la corticostérone.

Participation et contribution des auteurs

Tout au long des travaux de cette thèse, ma contribution fut d'avoir réalisé toutes les expériences ci-dessous :

- Chirurgie pour implanter les électrodes d'enregistrement du sommeil,
- Chirurgie pour l'induction de l'infarctus du myocarde,
- Enregistrement polysomnographique,
- Implantation des pompes osmotiques,
- Injection des médicaments,
- Surveillance des animaux,
- Planification et conduite des tests comportementaux et biochimiques,
- Collecte, analyse et interprétation des données recueillies,
- Rédaction, révision et correction des manuscrits.

En tant que directeurs de cette thèse de doctorat, Dr Roger Godbout et Dr Guy Rousseau ont supervisé les travaux, participé à l'analyse et à l'interprétation des données ainsi qu'à la correction des manuscrits. De ce fait, ils sont coauteurs seniors sur tous les manuscrits issus de cette thèse.

Les autres coauteurs ont participé à différentes étapes des expériences et sont présentés dans les différents manuscrits en fonction de leur contribution.

4.1. Préface de la première étude

La première étude qui a conduit à l'article "*Paradoxical sleep insomnia and decreased cholinergic neurons following acute myocardial infarction in the rat*" était basée sur la caractérisation du sommeil après un infarctus du myocarde dans notre modèle animal. Dans cette étude, nous avons montré que suite à un infarctus du myocarde, les animaux présentaient un profil atypique de sommeil contrairement aux modèles animaux de dépression fréquemment rencontrés dans la littérature. La caractérisation de l'architecture du sommeil a révélé une difficulté d'initiation du sommeil, suggérant une insomnie initiale, mais aussi un raccourcissement de la latence au sommeil paradoxal et des problèmes dans le circuit du sommeil paradoxal se traduisant par une réduction du temps passé en SP et du nombre d'épisodes de SP. Ce profil atypique nous a conduits donc à investiguer le générateur du sommeil paradoxal situé dans le tronc cérébral plus particulièrement la quantification des neurones cholinergiques de l'aire tegmentaire pedonculopontaine (PPT) et de l'aire tegmentaire latérodorsale (LDT) par la technique d'immunohistochimie. L'étude a montré une réduction significative des neurones cholinergiques dans le PPT tandis que ceux du LDT étaient préservés laissant penser probablement à une mort cellulaire par apoptose de ces neurones.

L'article a été publié dans le journal *Sleep* (Volume 33, Issue 12, pages: 1703-10) en 2010.

Thierno Madjou Bah est le principal auteur de cet article.

Paradoxical Sleep Insomnia and Decreased Cholinergic Neurons After Post-Myocardial Infarction in the Rat

Thierno Madjou Bah^{1,2}, M.Sc.; François Laplante⁴, Ph.D.; Boubacar Pasto Wann¹, Ph.D.; Ron Sullivan⁴, Ph.D.; Guy Rousseau^{1,3}, Ph.D.; Roger Godbout^{1,2,*}, Ph.D.

¹Centre de biomédecine, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, Université de Montréal; ²Département de psychiatrie, Université de Montréal; ³Département de pharmacologie, Université de Montréal; ⁴Department of Psychiatry, McGill University, Montreal, Quebec, Canada

number of words in the abstract: 275

number of words in the text: 3470

number of tables: 1

number of figures: 3

number of supplementary material : 0

Disclosure statement

This study was not industry-supported. The authors declare that they have no financial conflicts of interest.

Study support

This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) to R. Godbout (#155211). T.M. Bah is the recipient of a studentship from Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ)

Running title: Paradoxical sleep insomnia in post-MI rats

*Address for correspondence:

Roger Godbout, Ph.D.
Centre de biomédecine
Hôpital du Sacré-Cœur
5400, boul. Gouin Ouest, Montréal (Québec) Canada H4J 1C5
Phone: (514) 338-2222, ext. 2460, Fax: (514) 338-2694

Abstract

Study Objectives: Acute myocardial infarction (MI) is followed, within a few hours, by neuronal loss in the central nervous system (CNS), including the limbic system, the hypothalamus and the brainstem. Sleep before and after MI was investigated in the first experiment. In a parallel experiment, 2 weeks after MI, we quantified brainstem cholinergic neurons known to control paradoxical sleep (PS).

Measurements and Results: Data were obtained from 28 adult male Sprague-Dawley rats weighing 350-375 g and maintained under a 12-12 light-dark cycle in 2 experiments on 16 and 12 rats, respectively. The 16 animals in the first experiment were implanted with chronic electroencephalographic (EEG) and electromyographic (EMG) electrodes. A week after surgery, these animals were habituated for 2 days to the recording equipment, and baseline sleep was charted for 24 h. The next morning, MI was induced in 8 of the rats by occluding the left anterior ascending coronary artery for 40 min. The remaining 8 rats served as sham-operated controls. Sleep was recorded again 2 weeks after MI. The number of choline acetyltransferase (ChAT)-positive neurons was counted in the second, parallel experiment on 6 MI and 6 sham rats.

Compared to the sham controls, MI rats displayed longer latency to sleep onset, shorter latency to PS and curtailed PS duration. The number of ChAT-positive neurons in the pedunculopontine tegmentum (PPT) area of MI rats was significantly decreased compared to the sham controls while the number of laterodorsal tegmentum (LDT) cholinergic neurons was not different.

Conclusion: Acute MI is accompanied, within 2 weeks, by PS-specific insomnia that can be explained, at least partly, by a specific loss of cholinergic neurons in an area known to control PS.

Keywords: Paradoxical sleep; Myocardial infarction; Acetylcholine; Depression; Rat; Model

Introduction

Acute myocardial infarction (MI) is followed, within a few months, by major depression in 15-30% of patients¹. We recently replicated this phenomenon in a rat model in which behavioral signs of depression, such as despair and anhedonia, were encountered 2 weeks after MI and reversed by antidepressant treatments²⁻⁴. In humans, depression is also accompanied by sleep disorders, including difficulties initiating and maintaining sleep, less slow-wave sleep (SWS) together with facilitation of rapid eye movement (REM) sleep, also identified as paradoxical sleep⁵ (PS). These sleep disorders have also been documented in rat models of depression, such as learned helplessness⁶, chronic, mild stress⁷, olfactory bulbectomy⁸, the Flinders Sensitive Line⁹, and the neonatal clomipramine model of endogenous depression¹⁰. The present studies were undertaken to verify if the post-MI rat model of depression³ replicates the sleep findings reported in other animal models of depression and whether brainstem cholinergic neurons, known to be involved in PS control, are also targeted. Our hypotheses were that, 2 weeks after MI and compared to sham-operated controls, MI rats will show: a) increased sleep latency; b) decreased total sleep time; c) diminished SWS; d) reduced latency to PS; and e) greater total time spent in PS.

Methods

Experiment 1: sleep recording

This experiment was performed to characterize sleep architecture after MI in rats.

Animals

Sixteen adult male Sprague-Dawley rats weighing 350-375 g were acquired through regular trade (Charles Rivers, St-Constant, Quebec, Canada) and housed individually under standard conditions of 12/12-h light/dark cycles with light onset at 8:00 AM, temperature 21-25°C, relative humidity 40-50%, food and water ad libitum. All procedures described

below were conducted according to Canadian Council on Animal Care guidelines and were approved by the animal ethics committee of the Biomedical Research Centre at Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal.

Surgical procedures

1. Sleep

The animals were first anesthetized with ketamine/xylazine (50 mg/kg i.m. and 5 mg/kg i.m., respectively), then maintained on isoflurane (1-1.5%) ventilation. Body temperature was controlled by rectal probe connected to a thermostat-equipped heating pad set at 37°C. EEG electrodes were positioned bilaterally with stainless steel screws (diameter = 1.2 mm) in the skull bone over the sensorimotor and frontal cortices; a reference electrode was placed at midline over the cerebellum. Three EMG electrodes, made of fine, flexible, teflon-coated wire loops (diameter = 0.2 mm, bared 2 mm along the loop), were sown between the levator scapulae dorsalis and acromiotrapius neck muscles; pairs of EMG electrodes were referenced against each other. All electrodes were attached to a socket (Ginder Scientific, Ottawa, Ontario, Canada) that was fixed to the skull with dental acrylic cement. The animals were returned to their cages after receiving an antibiotic (15,000 IU penicillin G, i.m.) and an analgesic (2 mg/kg of butorphanol, s.c.). The socket was linked to a swivel connector, which was attached to a counter-balancing weight system, enabling the rats to move about freely. Electrophysiological signals were relayed to a Grass Model 78D polygraph, filtered and amplified, before being digitized at 256 Hz and written on disk with a computer-assisted system (Eclipse™, Stellate Systems, Montreal, Quebec, Canada). After 5-day post-operative recovery, the rats were connected for 2 days of habituation to the recording equipment under standard housing conditions, and baseline sleep was tracked for 24 h on the seventh day post-surgery. Sleep recordings were initiated after awakening, enforced by brief, gentle handling at light onset (08:00 AM), for 10 to 15 s.

2. *Myocardial infarction*

On the morning after baseline sleep recording, the rats were randomized into 1 of 2 groups: those in the experimental (MI) group were subjected to coronary occlusion for 40 min, followed by reperfusion, according to a standard method already published by our group²⁻⁴ (see below). The control (sham-operated) group of 8 rats submitted to the same thoracotomy protocol but without actual coronary artery occlusion. Ketamine and xylazine (50 mg/kg i.m. and 5 mg/kg i.m., respectively) were combined for anesthesia induction, after which the animals were intubated and placed on an artificial respirator, with anesthesia maintained by isoflurane (1.0-1.5%) ventilation. Then, a left thoracotomy was undertaken at the fifth intercostal space, and the left anterior descending coronary artery was occluded for 40 min with a silk thread in 8 rats. Electrocardiogram, temperature, heart rate and oxygen flow were monitored throughout the surgery. Ischemia was confirmed by ST segment alterations and ventricular subepicardial cyanosis. After 40 min of occlusion (ischemia), the ligature was loosened so that the myocardial tissue could be reperfused. Transient arrhythmias can occur during MI surgery, but no cardiac failure was observed (see below). Reperfusion was confirmed by the disappearance of cyanosis, and the thorax was closed, followed by injections of an antibiotic (15,000 IU penicillin G, i.m.) and an analgesic (2 mg/kg of butorphanol, s.c.), with the animals then being returned to their cages. The analgesic was given every 8 h during the 24 first h post-MI surgery. Two weeks after MI, sleep was recorded again in the same manner as described above.

3. *General conditions of animals after surgery*

All animals recovered optimally from sleep and MI surgeries. From the beginning of this study to the end, the general conditions (quality of hair and grooming, as monitored by animal health technicians of our research centre) and weight gain were similar in both control (136.17 ± 23.97 g) and MI rats (122.83 ± 20.17 g). Lung weight after sacrifice served as an indicator of possible heart failure, but no significant differences were apparent

between the controls (1.52 ± 0.06 g) and MI rats (1.55 ± 0.07 g). Finally, control and MI rats display similar swimming performances in the Morris water maze³, and run similar distances for 24 h in a running wheel (unpublished data), indicating intact motor performance. It thus can be concluded that there was no sign of pain or heart failure symptoms in MI rats.

Dependent measures and data analysis

1. Vigilance states

The best 2 EEG and EMG derivations were selected for the measurement of vigilance states with 10-s epochs. The following scoring criteria were implemented, using 10-s epochs: wakefulness was scored on the basis of low-voltage, high-frequency (≥ 6 -8 Hz) EEG coupled with high EMG levels. Slower EEG frequencies, vertex sharp waves and decreased EMG signal were scored as drowsiness. Light SWS (SWS-1) was scored from EEG sleep spindles (5-12 Hz) and more than 20% but less than 50% of EEG delta waves (2-4 Hz) per epoch. Deep SWS (SWS-2) scores were based on the predominance of EEG delta waves and more than 50% of epochs. Finally, PS was scored when EEG activity was low-amplitude and stable, with theta activity (5-8 Hz) and general EMG atonia. The following sleep parameters were computed and examined in the data analysis: latency to sleep and PS was the time elapsed from the beginning of sleep recording at light onset, after forced awakening, to the first occurrence of any sleep stage or PS; total sleep time: total time spent in any of the sleep stages after sleep onset; wake time after sleep onset: number of minutes during the total recording time after sleep onset; sleep efficiency: percentage of total sleep time during recording time after sleep onset; PS periods: uninterrupted bouts of PS lasting at least 3 minutes and terminated by at least 10 consecutive epochs of SWS or wakefulness. All recognizable PS episodes were computed in terms of duration (min) and occurrence (fragments).

2. *Infarct size*

Infarct size data were drawn from the animals used for sleep recordings and were analyzed according to a standard method described in our previous work²⁻⁴. Briefly, at the end of the experiment, the rats were sacrificed and their hearts were promptly removed. The left anterior descending coronary artery was occluded at the same site occluded earlier with 4.0 silk suture. Then, the heart was rinsed with saline (0.9%), followed by 0.5% Evans Blue infusion into the aorta to measure the area at risk (AR). The hearts were then frozen at -80°C for 5 min and sliced into 4 coronal sections of 2 mm. Each section was stained at 37°C for 5 min in a 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solution (TTC 1%, pH 7.4) to assess the area of necrosis (I). MI was expressed as a percentage of I of the AR (I/AR). Moreover, the AR was also expressed as a percentage of left ventricle (LV) area (AR/LV). In terms of appearance, each area was examined according to morphological properties intensified with TTC treatment: necrosed tissue was colored white, healthy tissue was colored red, and Evans Blue identified the area spared from ischemia (colored blue).

Statistical analyses

The 24-h sleep recording sessions were divided into light and dark periods. The data were evaluated by 1-tailed t-tests for independent groups, with an alpha level of .05. They were first analyzed for homogeneity of variance and for normality, which was the case.

Experiment 2: quantification of brainstem cholinergic neurons

This experiment was undertaken to examine the relationship between expected group differences in PS and PS control mechanisms located in the brainstem.

1. Animals

Twelve rats (6 MI and 6 sham) weighing 350-375 g and acquired through regular trade (Charles Rivers) were housed individually under standard conditions (see experiment 1 above). All procedures were conducted according to Canadian Council on Animal Care guidelines and were approved by the animal ethics committee of the Research Centre where the experiments were performed.

All surgical procedures for sleep recording and MI were the same as those detailed above (experiment 1). At the end of the sleep recording (i.e., 2 weeks after MI), the rats were sacrificed according to the method explained below.

2. Perfusion and histology

The animals were deeply anesthetized with ketamine/xylazine (50 mg/kg and 5 mg/kg i.m., respectively) and perfused transcardially with 100 ml of 0.9% NaCl, followed by 700 ml of ice-cold 4% paraformaldehyde in 0.1 M sodium tetraborate buffer (pH 9.5). Their brains were post-fixed for 3 h and then cryoprotected in 15% sucrose in KPBS buffer (potassium phosphate 0.02 M; NaCl 0.9%; pH 7.4) overnight at 4°C. Frozen coronal brainstem sections (30 µm thick) were cut in a freezing cryostat at in four 1-in-4 (1-4) series throughout the brainstem, referring to the rat atlas of Paxinos and Watson¹¹. The beginning and end of the pedunclopontine tegmentum (PPT) were set between Bregma -6.72 and -8.76, respectively; the beginning and end of the laterodorsal tegmentum (LDT) were set between Bregma -8.16 and -9.48, respectively (Figure 1). Sections were collected in cold cryoprotectant (sodium phosphate 0.05 M; sucrose 15%; ethyl glycol 30%; pH 7.4) and stored at -20°C until histochemical procedures were performed.

3. Immunohistochemistry

To ascertain the number of choline acetyltransferase (ChAT)-positive neurons, brain sections were first rinsed in KPBS buffer to remove the cryoprotectant, then pretreated for 10 min with 0.3% hydrogen peroxide to reduce endogenous peroxidase activity and for 8 min with 1% sodium borohydrate solution to eliminate free aldehyde, followed by incubation with primary goat anti-ChAT antibody (Chemicon, Temecula, CA) at 1:2,000 in KPBS buffer with 0.3% Triton X-100 and 2% rabbit serum for 48 h at 4°C. The primary antibody was detected with biotinylated rabbit anti-goat immunoglobulin (Vector Laboratories, Burlingame, CA) at 1:200 (48 h) and avidin-DH-biotinylated horseradish peroxidase-H-complex (Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories). The diaminobenzidine (DAB) reaction product was developed with the DAB substrate kit for peroxidase (Vector Laboratories) according to the manufacturer's instructions.

Dependent measures and data analysis

The PPT and LDT areas were defined by the boundary of the outermost cholinergic neurons in each section. Cells were quantified with a non-stereological method, since MI was not expected to change cell size. Cholinergic neurons were counted from 1-in-4 series of coronal brainstem sections representing 14-16 sections. ChAT-positive stained neurons with a discernible nucleus were counted under 10X magnification to discern any numerical differences between MI and sham-operated rats. The data represent total counts from the left plus the right sides of the brain.

Statistical analyses

An independent 2-tailed t-test was applied to compare the means of ChAT-positive neurons, with $p < 0.05$ considered as significant. The data were first analyzed for homogeneity of variance and for normality, which was the case.

Results

1. Infarct size

The infarct size data, derived from animals used for sleep recording, corresponded to $46.78 \pm 1.34\%$ of the AR in the MI group and more than 50% of the LV. No cardiac tissue damage was observed in the sham-operated controls, similar to values reported in our own previous studies as well as those of others¹².

2. Sleep

Before MI, both groups presented similar baseline sleep organization (data not included). The results obtained 2 weeks after MI are summarized in Table 1. Compared to the sham controls, MI rats displayed longer latency to sleep onset ($t(8) = -2.88$, $p < 0.01$) and shorter latency to PS ($t(8) = 2.26$, $p < 0.05$). MI rats also manifested significantly less PS time ($t(8) = 2.17$, $p < 0.05$) and a lower number of PS periods ($t(8) = 3.66$, $p < 0.01$) during the light period, with significantly fewer PS fragments both during the 24-h recording period ($t(8) = 2.62$, $p < 0.05$) and in the light period ($t(8) = 3.52$, $p < 0.01$). There were no significant differences in any sleep parameters analyzed in the dark period except for drowsiness: relative to the sham controls, MI rats showed significantly less drowsiness time (168.70 ± 23.93 vs. 97.75 ± 13.67 ; $t(8) = 2.58$, $p < 0.05$).

3. Immunohistochemistry

In comparison to the sham controls, MI rats exhibited a significant diminution of ChAT-sensitive neurons in the PPT area ($t(6) = 2.84$, $p < 0.01$) but not in the LDT area ($t(6) = 0.84$, $p > 0.05$) (Figures 2 and 3A to 3D). In both groups, ChAT-sensitive neurons were equally distributed on the right and left sides.

Discussion

The present paper deals with sleep organization and control mechanisms related to PS/REM sleep after acute MI. The fact that MI is followed by depressed mood and actual major depression in a certain proportion of patients¹ suggests that post-MI sleep may be altered either by MI-related mechanisms themselves or by mechanisms associated with the development of depression. In humans, sleep after MI¹³⁻¹⁵ and sleep in depressed patients¹⁶⁻¹⁸ are both characterized by sleep maintenance difficulties, with high amounts of wakefulness and poor sleep efficiency. REM sleep, however, differs between the 2 conditions: post-MI sleep in humans features long sleep latency, a short duration of REM sleep and a low number of REM sleep periods¹³⁻¹⁵, while depressed patients show overall facilitation of REM sleep¹⁶⁻¹⁸. In the present experiments on rats, we recorded long sleep latency compatible with findings in humans after MI or upon depression while the PS data were mixed: PS latency was facilitated while PS duration was decreased relative to the sham controls.

Laboratory sleep recordings in persons with depression also disclose a reduction of SWS together with diminished latency and increased duration of REM sleep⁵. These sleep patterns have been attributed to one or another of many possibilities, including faulty mechanisms of SWS control¹⁹, heightened REM sleep pressure²⁰ and ultradian rhythm disorders²¹. Most rat models of depression are compatible with this profile^{5,22,23}. In our

experiments, the finding that insomnia was almost exclusively attributable to loss of PS was the opposite of what was expected, since post-MI rats display clear behavioral signs of depression that can be blocked by antidepressants^{3,4}. Indeed, the present results could constitute another demonstration that the relationship between PS and depression may sometimes diverge from the usual profile. Indeed, while it is known, for example, that most antidepressant treatments inhibit PS, molecules, such as trimipramine, monoamine oxidase inhibitors, trazodone, and bupropion, do not suppress PS²⁴, whereas nefazodone might even increase it²⁵. In any case, cholinergic control of PS is achieved through interaction between brainstem cholinergic and cholinceptive neurons²⁶, and our data show that a subgroup of pontine cholinergic neurons, namely, the PPT, is decreased 2 weeks after MI compared to the sham controls. Since it has been reported that lesions of PPT cholinergic neurons significantly reduce PS^{27,28}, the present results may be sufficient to explain the decline of PS seen here in MI rats, even though other mechanisms, such as decreased number of post-synaptic cholinceptive neurons or increased “REM-off” neuron activity²⁶, should not be dismissed. It is noteworthy that although the pontine cholinergic/cholinceptive system has been found to play a role in at least 1 of the models, i.e., the Flinders Sensitive Line⁹, ChAT-positive neurons do not seem to contribute to the PS facilitation it displays^{29,30}. These observations are in accordance with the present data, showing facilitation of REM sleep latency in rats in the face of diminished PPT cholinergic neurons. They further indicate that other elements, selectively and specifically involved in the control of REM sleep onset and shared with the physiopathology of depression, may be important here in maintaining high pressure on PS onset.

The decreased PS time reported here is compatible with what has been observed in patients after MI¹³⁻¹⁵ and can be conceptually associated with a reduced number of ChAT-sensitive brainstem neurons, as illustrated in the present study. Still, the mechanism(s) by which brainstem cholinergic neurons are lost after MI is unclear. One possibility is that circulating neurotoxic substances released upon post-MI reperfusion might be implicated. It is known that pro-inflammatory cytokines, such as interleukin-1 (IL-1), IL-6, and tumor necrosis

factor- α (TNF α) are released after MI³¹⁻³³. We have previously observed that pentoxifylline, a non-specific cytokine synthesis inhibitor, prevents neural apoptosis in the amygdala after MI without effect on infarct size² and that TNF α is involved³⁴. We have also demonstrated that inhibition of the inducible inflammatory enzyme cyclooxygenase-2 (COX-2), during the reperfusion period, attenuates the apoptotic process (decreased number of terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL)-positive cells and reduced caspase-3 activation) in the amygdala without affecting infarct size³⁵. Cholinergic cells of the amygdala are thought to be engaged in the control of PS^{36,37}. Moreover, a relationship between apoptosis and PS loss has been noted: selective PS deprivation³⁸, but not unselective sleep deprivation, induces apoptosis in the amygdala and PPT/LDT as well as in several other brain regions, including the habenula, locus coeruleus, hippocampus, and areas of the hypothalamus^{38,39}. The present results thus indicate that pro-inflammatory cytokines could be involved in the decreased post-MI duration of PS reported here, through apoptosis in the amygdala and PPT cholinergic area.

In summary, these data reveal that acute MI is accompanied, within 2 weeks, by PS-specific insomnia that can be at least partly attributed to a particular loss of cholinergic neurons in brainstem areas known to control PS. We conclude that PPT cholinergic neurons are more sensitive than LDT cholinergic neurons to central insults induced by acute MI, a phenomenon that could be explained by the heterogeneity of neuronal cell neurotransmitters released in these 2 nuclei, as well as pro-inflammatory cytokine activity and triggers of cell death.

Study limitations and future studies

Sleep was recorded 2 weeks after MI, but it is possible that sleep patterns were affected at an earlier stage. This possibility needs to be investigated since we have reported the

presence of apoptosis in various brain regions as early as 72 h after MI^{2,40}. If such is the case, then sleep disorders could be considered as early effects of early apoptosis. Moreover, given the reciprocal connectivity of the amygdala with the myocardium and its influence on heart rate control⁴¹, it is crucial to ascertain which nucleus of the amygdala is specifically sensitive to early apoptosis.

Another possible limitation of the present study is that direct insult to the brain, caused by hypoxia during the MI procedure, may have contributed to the results. Although this possibility needs to be considered, many hypoxia-independent functional routes, through which circulating pro-inflammatory cytokines may act on the brain, also deserve to be examined. It is known, for example, that peripheral circulating cytokines have clear effects on the brain by accessing it via circumventricular organs⁴², by crossing the blood-brain barrier^{43,44} or, indirectly, by stimulating peripheral vagal afferents^{45,46}. Proinflammatory cytokines may recruit peripheral immune cells into the brain, which may then express cytokines⁴⁷. Finally, it is also apparent that pro-inflammatory cytokines can be produced endogenously within the brain⁴⁸ through the induction of inducible cyclooxygenase (COX-2) activity in the cerebral microvasculature^{49,50}.

Finally, future research should further explore cholinergic neurons in other areas of the brain, including the hippocampus and the basal forebrain, together with cholinergic receptors and apoptosis markers, possibly by quantified analysis of EEG activity during SWS and PS. The fact that PS was inhibited rather than facilitated should lead to further investigation to evaluate the effects of antidepressants on sleep in post-MI rats.

Acknowledgements

This research was supported by a grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to R.G. and studentships from Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ) and the J.A. DeSève Foundation to T.M.B. G.R. is a Research Scholar of the FRSQ. We are grateful to Sevan Kaloustian, Pierre Fortier, Louis Chiocchio and Caroline Bouchard for their skillful assistance and technical expertise.

References

1. Guck TP, Kavan MG, Elsasser GN, Barone EJ. Assessment and treatment of depression following myocardial infarction. *Am Fam Physician* 2001;64:641-8.
2. Wann BP, Boucher M, Kaloustian S, Nim S, Godbout R, Rousseau G. Apoptosis detected in the amygdala following myocardial infarction in the rat. *Biol Psychiatry* 2006;59:430-3.
3. Wann BP, Bah TM, Boucher M, et al. Vulnerability for apoptosis in the limbic system after myocardial infarction in rats: a possible model for human postinfarct major depression. *J Psychiatry Neurosci* 2007;32:11-6.
4. Wann BP, Bah TM, Kaloustian S, et al. Behavioural signs of depression and apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: effects of sertraline. *J Psychopharmacol* 2009;23:451-9.
5. Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA, Gillin JC. Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:651-68.
6. Adrien J, Dugovic C, Martin P. Sleep-wakefulness patterns in the helpless rat. *Physiol Behav* 1991;49:257-62.
7. Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 2005;52:90-110.
8. Song C and Leonard BE. The olfactory bulbectomised rat as a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29:627-47.
9. Overstreet DH, Friedman E, Mathe AA, Yadid G. The Flinders Sensitive Line rat: a selectively bred putative animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29:739-59.

10. Vogel GW, Neil D, Hagler M, Kors D. A new animal model of endogenous depression: a summary of present findings. *Neurosci Biobehav Rev* 1990;14:85-91.
11. Paxinos G and Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 5th ed. New York: Elsevier, 2004.
12. Hwang IK, Yoo KY, Han TH, et al. Enhanced cell proliferation and neuroblast differentiation in the rat hippocampal dentate gyrus following myocardial infarction. *Neurosci Lett* 2009;450:275-80.
13. Broughton R and Baron R. Sleep patterns in the intensive care unit and on the ward after acute myocardial infarction. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1978;45:348-60.
14. BaHammam A. Sleep quality of patients with acute myocardial infarction outside the CCU environment: a preliminary study. *Med Sci Monit* 2006; 12:CR168-72.
15. Schiza SE, Simantirakis E, Bouloukaki I, et al. Sleep patterns in patients with acute coronary syndromes. *Sleep Med* 2010;11:149-53.
16. Cartwright RD and Wood E. Adjustment disorders of sleep: the sleep effect of a major stressful event and its resolution. *Psychiatry Res* 1991;39:199-209.
17. Abad VC and Guilleminault C. Sleep and psychiatry. *Dialogues Clin Neurosci* 2005;7:291-303.
18. Mendlewicz J. Sleep disturbances: core symptoms of major depressive disorder rather than associated or comorbid disorders. *World J Biol Psychiatry* 2009;10:269-75.
19. Borbely AA. The S-deficiency hypothesis of depression and the two-process model of sleep regulation. *Pharmacopsychiatry* 1987;20:23-9.

20. Vogel GW, McAbee R, Barker K, Thurmond A. Endogenous depression improvement and REM pressure. *Arch Gen Psychiatry* 1977;34:96-7.
21. Schwartz PJ, Rosenthal NE, Kajimura N et al. Ultradian oscillations in cranial thermoregulation and electroencephalographic slow-wave activity during sleep are abnormal in humans with annual winter depression. *Brain Res* 2000;866:152-67.
22. Adrien J. Neurobiological bases for the relation between sleep and depression. *Sleep Med Rev* 2002;6:341-51.
23. Jindal RD, Thase RD, Fasiczka AL, et al. Electroencephalographic sleep profiles in single-episode and recurrent unipolar forms of major depression: II. Comparison during remission. *Biol Psychiatry* 2002;51:230-6.
24. Wilson SJ and Argyropoulos SV. Antidepressants and sleep: a qualitative review of the literature. *Drugs* 2005;65:927-47.
25. Rush AJ, Armitage R, Gillin JC, et al. Comparative effects of nefazodone and fluoxetine on sleep in outpatients with major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 1998;44:3-14.
26. Fuller PM, Saper CB, Lu J. The pontine REM switch: past and present. *J Physiol* 2007;584: 735-41.
27. Shouse MN and Siegel JM. Pontine regulation of REM sleep components in cats: integrity of the pedunculopontine tegmentum (PPT) is important for phasic events but unnecessary for atonia during REM sleep. *Brain Res* 1992;571:50-63.
28. Webster HH and Jones BE. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic cell area in the cat. II. Effects upon sleep-waking states. *Brain Res* 1988;458:285-302.

29. Greco MA, Magner M, Overstreet D, Shiromani PJ. Expression of cholinergic markers in the pons of Flinders rats. *Brain Res Mol Brain Res* 1998;55:232-6.
30. Overstreet DH, Russell RW, Crocker AD, Schiller GD. Selective breeding for differences in cholinergic function: pre- and postsynaptic mechanisms involved in sensitivity to the anti-cholinesterase, DFP. *Brain Res* 1984;294:327-32.
31. Deten A and Zimmer HG. Heart function and cytokine expression is similar in mice and rats after myocardial infarction but differences occur in TNFalpha expression. *Pflugers Arch* 2002;445:289-96.
32. Francis J, Chu Y, Johnson AK, Weiss RM, Felder RB. Acute myocardial infarction induces hypothalamic cytokine synthesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286:H2264-71.
33. Pudil R, Pidrman V, Krejsek J, et al. Cytokines and adhesion molecules in the course of acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1999;280:127-34.
34. Kaloustian S, Bah TM, Mathieu S, et al. Tumor necrosis factor-alpha participates in apoptosis in the limbic system after myocardial infarction. *Apoptosis* 2009;14:1308-16.
35. Kaloustian S, Wann BP, Bah TM, et al. Celecoxib after the onset of reperfusion reduces apoptosis in the amygdala. *Apoptosis* 2007;12:1945-51.
36. Sanford LD, Yang L, Tang X, Dong E, Ross RJ, Morrison AR. Cholinergic regulation of the central nucleus of the amygdala in rats: effects of local microinjections of cholinomimetics and cholinergic antagonists on arousal and sleep. *Neuroscience* 2006;141:2167-76.
37. Tang X, Yang L, Liu X, Sanford LD. Influence of tetrodotoxin inactivation of the central nucleus of the amygdala on sleep and arousal. *Sleep* 2005;28:923-30.

38. Biswas S, Mishra P, Mallick BN. Increased apoptosis in rat brain after rapid eye movement sleep loss. *Neuroscience* 2006;142:315-31.
39. Hipólido DC, D'Almeida V, Raymond R, Tufik S, Nobrega JN. Sleep deprivation does not affect indices of necrosis or apoptosis in rat brain. *Int J Neurosci* 2002;112:155-66.
40. Kaloustian S, Wann BP, Bah TM, et al. Apoptosis time course in the limbic system after myocardial infarction in the rat. *Brain Res* 2008;1216: 87-91.
41. Thayer JF and Lane RD. Claude Bernard and the heart-brain connection. *Neurosci Biobehav Rev* 2009;33:81-8.
42. Banks WA. Physiology and pathology of the blood-brain barrier: implications for microbial pathogenesis, drug delivery and neurodegenerative disorders. *J NeuroVirol* 1999;5:538-55.
43. Banks WA and Kastin AJ. The interleukins-1 α , -1 β , and -2 do not acutely disrupt the murine blood-brain barrier. *Int J Immunopharmacol* 1992;14:629-36.
44. Ellison M, Krieg RJ, Povlishock JT. Differential central nervous system responses following single and multiple recombinant IL-2 infusions. *J Neuroimmunol* 1990;28:249-60.
45. Maier SF, Goehler LE, Fleshner M, Watkins LR. The role of the vagus nerve in cytokine-to-brain communication. *Ann NY Acad Sci* 1998;840:289-300.
46. MohanKumar SM, MohanKumar PS, Quadri SK. Effects of bacterial lipopolysaccharide on central monoamines and fever in the rat: involvement of the vagus. *Neurosci Lett* 2000;284:159-62.

47. Proescholdt MG, Chakravarty S, Foster JA, Foti SB, Briley EM, Herkenham M. Intracerebroventricular but not intravenous interleukin-1 β induces widespread vascular-mediated leukocyte infiltration and immune signal mRNA expression followed by brainwide glial activation. *Neuroscience* 2002;112:731-49.
48. Rothwell NJ. Annual review prize lecture cytokines – killers in the brain? *J Physiol* 1999;514:3-17.
49. Ericsson A, Arias C, Sawchenko PE. Evidence for an intramedullary prostaglandin-dependent mechanism in the activation of stress-related neuroendocrine circuitry by intravenous interleukin-1. *J Neurosci* 1997;17:7166-79.
50. Rivest S, Lacroix S, Vallieres L, Nadeau S, Zhang J, Laflamme N. How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000;223:22-38.

Table 1: Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) in 24-h recording time and light period 2 weeks after MI (n=8/group).

Sleep parameters	SHAM				MI				p	
	24 h		Light		24 h		Light		24 h	Light
Sleep latency (min)	10.29 \pm 2.52		10.29 \pm 2.52		20.41 \pm 2.79		20.41 \pm 2.79		0.01 [*]	0.01 [*]
Total sleep time (min)	893.60	\pm 51.12	563.64	\pm 18.59	816.29	\pm 49.07	530.47	\pm 21.27	0.29	0.27
Wake after sleep onset (min)	515.00	\pm 38.45	143.87	\pm 18.82	578.39	\pm 53.73	156.58	\pm 20.46	0.35	0.65
Sleep efficiency (%)	62.65 \pm 3.54		79.66 \pm 2.64		57.76 \pm 3.57		76.86 \pm 3.05		0.34	0.50
Drowsy duration (min)	357.10	\pm 47.14	193.54	\pm 23.92	250.52	\pm 22.07	151.70	\pm 13.04	0.06	0.14
SWS-1 duration (min)	424.62	\pm 43.12	286.77	\pm 27.65	462.45	\pm 27.13	303.39	\pm 13.29	0.46	0.59
SWS-2 duration (min)	17.60 \pm 7.58		13.97 \pm 6.40		24.47 \pm 7.65		19.73 \pm 7.52		0.53	0.57
PS latency (min)	40.62 \pm 5.70		40.62 \pm 5.70		22.14 \pm 3.95		22.14 \pm 3.95		0.01 [*]	0.01 [*]
PS duration (min)	103.52 \pm 7.78		76.08 \pm 5.79		82.70 \pm 8.75		58.00 \pm 5.97		0.09	0.04 [*]
PS fragments (number)	83.37 \pm 7.08		60.87 \pm 5.46		57.50 \pm 6.86		38.50 \pm 3.22		0.02 [*]	0.003 ^{**}
PS periods (number)	61.00 \pm 3.55		43.87 \pm 2.28		48.62 \pm 6.25		31.62 \pm 2.45		0.10	0.002 ^{**}

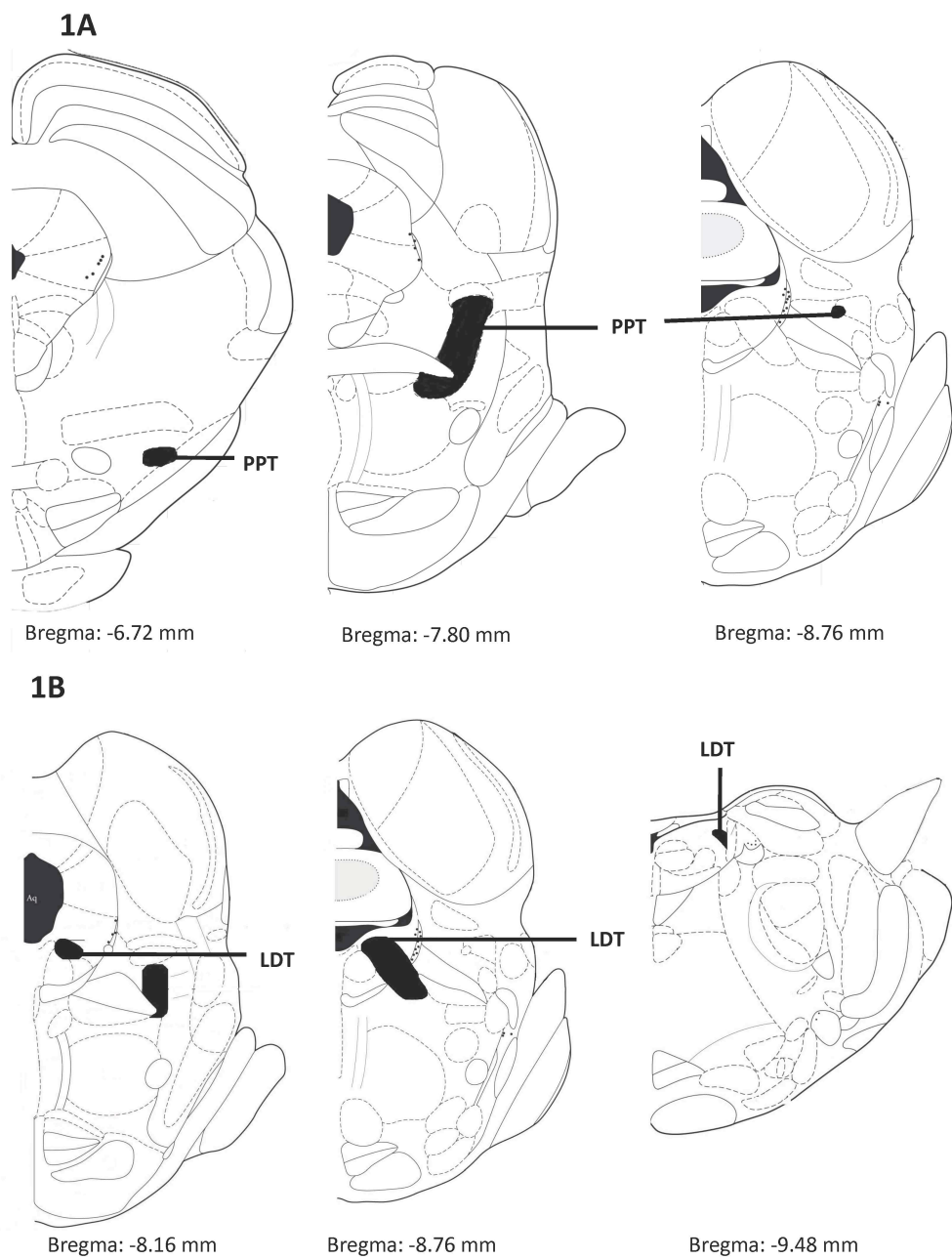
Figure legends

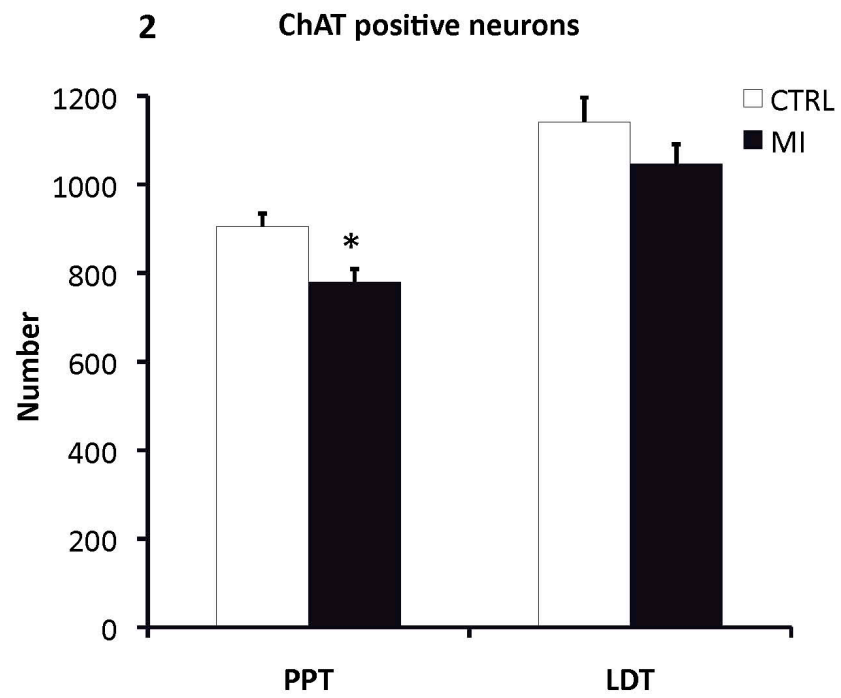
Figure 1: Stereotaxic coordinates based on The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates by Paxinos and Watson¹¹. 1A and 1B: Adapted figures respectively showing the beginning and end of the PPT nucleus and LDT nucleus in the brainstem.

Figure 2: Number of ChAT-positive neurons in myocardial-infarcted (MI) rats and sham controls (CTRL) in the left + right PPT and LDT areas. There were no differences between the left and right sides of the brainstem. * $p < 0.05$.

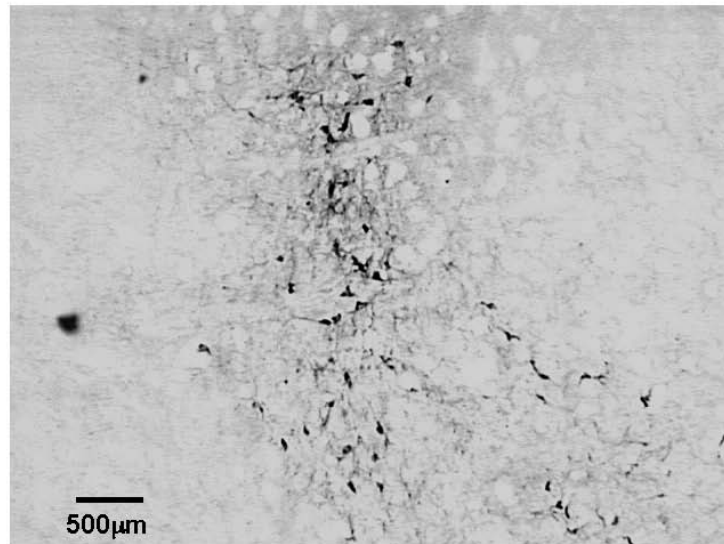
Figure 3: Examples of ChAT-positive neurons in the left brainstem of a MI and a sham rat. 3A, 3B: left PPT. 3C, 3D: left LDT. There were no differences between the left and right sides of the brainstem.

Figures

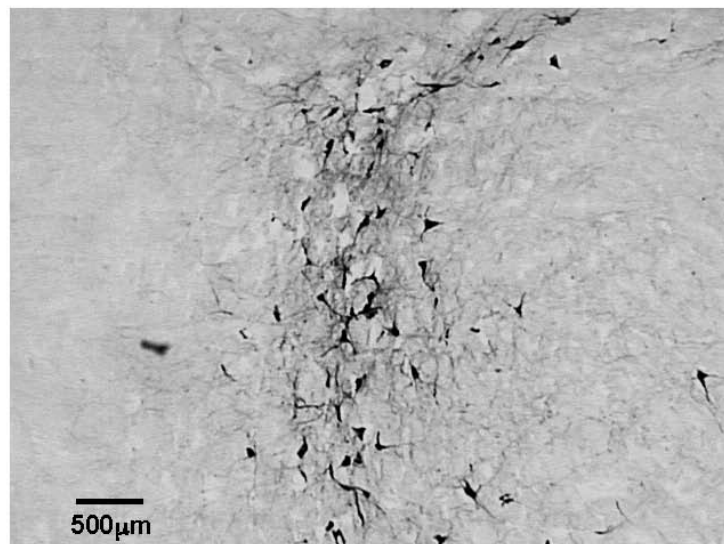




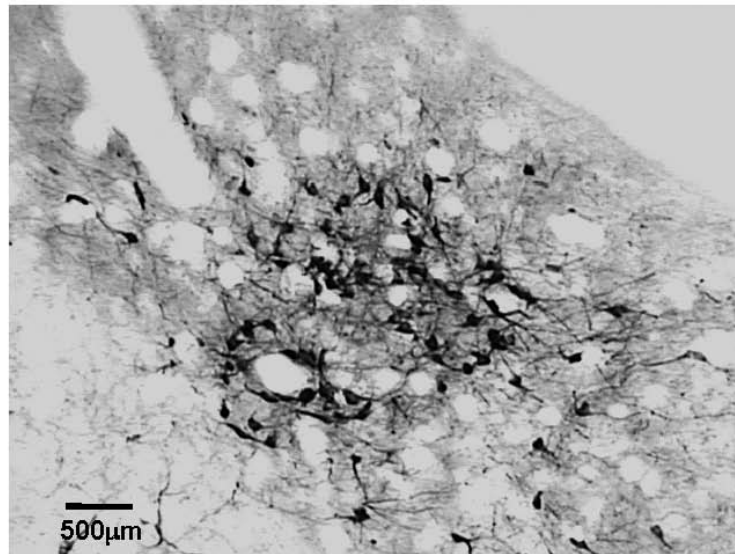
3A **MI rat: ChAT positive neurons in the PPT**



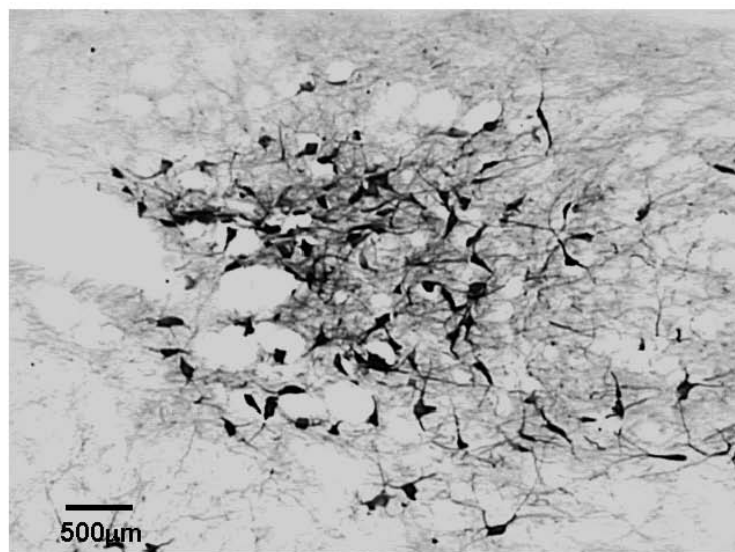
3B **Sham rat: ChAT positive neurons in the PPT**



3C **MI rat: ChAT positive neurons in the LDT**



3D **Sham rat: ChAT positive neurons in the LDT**



4.2. Préface de la deuxième étude

La deuxième a donné naissance à l'article intitulé "*Escitalopram reduces circulating proinflammatory cytokines and improves depressive behavior without affecting sleep in a rat model of post cardiac infarct depression.*" Dans cette étude, nous voulions investiguer si un traitement antidépresseur comme l'escitalopram (inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine) pourrait remédier les troubles observés ainsi que le niveau des substances suivantes : TNF- α , IL-1 β , IL-6, PGE₂ et les glucocorticoïdes. Les cytokines proinflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6 sont connues pour leur implication à la fois dans la dépression, l'IM, mais aussi dans la régulation du sommeil (inhibition du sommeil paradoxal), ce qui corrèle en partie avec la diminution du nombre de neurones cholinergiques observé dans le tronc cérébral de la première étude.

L'article a été soumis pour publication dans le journal *Biological Psychiatry (BPS-S-10-02431)* en 2010.

Thierno Madjou Bah est le principal auteur de cet article.

Escitalopram reduces circulating pro-inflammatory cytokines and improves depressive behavior without affecting sleep in a rat model of post-cardiac infarct depression

Thierno Madjou Bah^{1,2}, M.Sc.; Mohamed Benderdour^{1,4}, Ph.D.; Sévan Kaloustian^{1,3}; Ph.D.;
Ramy Karam¹, B.Sc.; Guy Rousseau^{1,3*}, Ph.D.; Roger Godbout^{1,2}, Ph.D.

¹Centre de biomédecine, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, ²Département de psychiatrie,
Université de Montréal, ³Département de pharmacologie, Université de Montréal,
⁴Département de chirurgie, Université de Montréal, Québec, Canada

number of words in the abstract: 238
number of words in the text: 4542
number of tables: 2
number of figures: 3
number of figures: 6
number of supplementary material : 0

*Address for correspondence:

Guy Rousseau, Ph.D.
Centre de biomédecine
Hôpital du Sacré-Coeur
5400, boul. Gouin Ouest
Montréal (Québec) Canada H4J 1C5
Phone: (514) 338-2222, ext. 3421
Fax: (514) 338-2694

Abstract

Background: Acute myocardial infarction (MI) in rats is followed by a behavioral syndrome compatible with human post-MI depression. We tested the effects of escitalopram, a selective serotonin reuptake inhibitor, on this syndrome.

Methods: Myocardial ischemia was induced for 40 minutes in 19 young adult Sprague-Dawley rats (MI rats) and compared to 20 Sham rats. Fifteen minutes after the onset of reperfusion, escitalopram (10 mg/kg/day, i.p.) or saline was continuously infused through osmotic minipumps. After two weeks of treatment, rats were tested for behavioral despair and anhedonia using the Forced Swim Test and the Sucrose Preference Test paradigm, respectively. Animals were then sacrificed and blood levels of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α), prostaglandin E₂ (PGE₂) and corticosterone were measured. In a separate cohort of 12 rats, sleep was recorded after two weeks of post-MI treatment with escitalopram.

Results: In MI rats, behavioral despair and anhedonia were blocked by escitalopram but prolonged sleep latency, low total sleep time and short latency to Paradoxical Sleep (PS) were not; escitalopram decreased PS in Sham rats. TNF- α , PGE₂, and corticosterone plasma levels were higher in MI rats compared to controls. Escitalopram decreased TNF- α , IL-1 β , and PGE₂ levels in both groups of rats while IL-6 showed no differences whatsoever.

Conclusion: Escitalopram reverses the rat post-MI behavioral syndrome through a mechanism that could involve a reduction of pro-inflammatory cytokines and PGE₂. Escitalopram has only limited effects on sleep disorders in MI rats but reduced PS in control rats.

Keywords: Antidepressant; Myocardial infarction; REM Sleep; Cytokines; Prostaglandin; Corticosterone.

Introduction

After a myocardial infarction (MI), up to 65% of patients show behavioral signs of depression (1) and 15-30% of these patients develop major depression in the months following this event (2-4). We have developed a rat model to characterize the post-MI syndrome (5-7). In this model, MI rats drank significantly less sucrose and remained more immobile in a Forced Swim Test, respectively suggesting a state of anhedonia and of behavioral despair. These behavioral signs were blocked by the tricyclic antidepressant desipramine and the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) sertraline (6, 7) as well as by pentoxifylline (PTX), a cytokine synthesis inhibitor (8). MI in the rat is also accompanied by apoptosis in the limbic system, and this can be prevented by a tricyclic antidepressant such as desipramine (6) or a SSRI such as sertraline (7) as well as by celecoxib, an inhibitor of the inducible inflammatory enzyme Cox-2 (9). We have also found that MI is accompanied by increased levels of the proinflammatory cytokine TNF- α (10). SSRIs are known to be able to regulate the levels of proinflammatory cytokines (11-16) but this has not been tested yet in MI rats.

Recently, we have shown that the post-MI syndrome is accompanied by insomnia, characterized by a selective loss of paradoxical sleep (PS, also known as Rapid Eye Movement [REM] sleep); the results showed that this effect could be explained by a significantly reduced number of cholinergic neurons in the PS executive brainstem area, more specifically in the pedunculopontine tegmental (PPT) area (5). Because we know that, under inflammatory conditions, activated microglia and astrocytes in the central nervous system produce cytotoxic molecules such as nitric oxide (NO), oxygen radicals, arachidonic acid derivatives and cytokines (17), we hypothesized that increased pro-inflammatory cytokines could be involved in the effect of MI on sleep (5).

The aim of the present study was to assess the effects of escitalopram, a SSRI antidepressant on post-MI syndrome. We decided to use this S-stereoisomer (enantiomer) of

escitalopram because it has become a first-line choice in the treatment of depression (18, 19). We hypothesized that escitalopram would reverse the effects of MI on behavior, sleep and blood levels of proinflammatory cytokines, prostaglandin E2, and corticosterone dependant measures.

Methods and Materials

Experimental groups

All procedures were conducted with the approval of the local Animal Care Committee of the Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal. Sixty-three male Sprague-Dawley rats (Charles River Canada, Saint-Constant, Québec, Canada), weighing 350-375 g, were housed individually under standard conditions of light-darkness cycle (12/12 h with light onset at 8:00 AM), temperature (21-25°C), relative humidity (40-50%); food and water were available *ad libitum*. Rats were randomly assigned to 1 of 4 distinct groups: sham and MI groups received either the vehicle (saline 0.9%) or escitalopram (10 mg/kg/day i.p.) continuously, starting 15 minutes after the onset of reperfusion until the end of the experiment. Escitalopram was graciously provided by H. Lundbeck A/S.

In vivo surgical procedure and heart tissue preparation

Rats were first anaesthetized with ketamine-xylazine (50 mg/kg and 5 mg/kg i.m., respectively), then intubated so anesthesia could be maintained with isoflurane (1.0-1.5%) ventilation; respiration was monitored throughout. Body temperature was controlled by a rectal probe connected to a thermostat-equipped heating pad set at 37°C. ECG and heart rate of the rats were monitored through electrodes placed on their paws. A left thoracotomy was performed in 19 rats, and the left anterior descending coronary artery was occluded by a 4.0 silk suture with a plastic snare. Ischemia was confirmed by ST segment alterations

and ventricular subepicardial cyanosis. After 40 minutes of occlusion, the ligature was loosened so that the myocardial tissue could be reperfused. Reperfusion was confirmed by the disappearance of cyanosis. The control (sham-operated) group of 20 rats was submitted to the same thoracotomy protocol but without actual coronary artery occlusion. The thorax was closed after the installation of the osmotic minipumps into the peritoneal cavity. The animals were returned to their cages after receiving an antibiotic (15,000 IU penicillin G, i.m.) and an analgesic (2 mg/kg of butorphanol, s.c.). All surgeries were performed during the morning hours. The analgesic was given every 8 h during the first 24 hours post-surgery.

Treatment

Escitalopram was administered i.p. through ALZET osmotic minipumps model 2ML4 (Cupertino, CA) at a dose of 10 mg/kg/day immediately after closing the thorax. All steps were carefully undertaken in a sterile environment. Briefly, the minipump reservoirs were filled with 2 ml of fresh solutions of vehicle (saline 0.9%) or escitalopram (56 mg/ml) with a syringe attached to a filling tube at its extremity, after which a flow moderator was installed (flow rate: $2.5 \mu\text{l/hr} \pm 0.05 \mu\text{l/hr}$). The osmotic minipumps were implanted into the peritoneal cavity 15 minutes after the cardiac reperfusion onset and rats were returned in their cage for recovery for two weeks.

Measures of infarct size and area at risk

The rats were sacrificed by decapitation after completion of the behavioral tests, and their hearts were promptly removed to evaluate infarct size. First, blood was washed away with saline by canulation of the aorta. Then, the left anterior descending coronary artery was occluded at the original site. Evans Blue (0.5%) was infused in the heart through the aorta to assess the area at risk (AR), i.e., the area of the left ventricle perfused by the left anterior

descending coronary artery. The heart was then frozen for 5 minutes at -80°C . Four 2-mm transverse slices were cut and dipped in a 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solution (TTC: 1%, pH 7.4) for 5 minutes to measure the area of necrosis (I). MI size was expressed as a percentage of necrosis over the AR (I/AR). Furthermore, the AR was expressed as a percentage of the left ventricle (LV) area (AR/LV). In terms of appearance, each area was examined according to morphological properties intensified with TTC treatment: necrosed tissue appeared white whereas healthy tissue in the area at risk appeared red; Evans Blue identified the area spared from ischemia (colored in blue).

Behavioral measures

Behavioral tests were performed in 39 Sprague Dawley rats. Tests were selected for their validity with regards to behavioral depressive syndrome and used in previous publications of ours with the same MI model (5-8). All tests were conducted individually, in the morning, starting 14 days following MI.

Forced Swim Test

This test was originally described by Porsolt (20) and it is a measure of behavioral despair (21). Briefly, rats were placed in a clear plastic cylindrical pool (45 cm tall x 25 cm diameter) filled with 30 cm of water maintained at $22-25^{\circ}\text{C}$. Rats were tested for two consecutive days (15 min. on 14th day post-MI surgery and 5 min. on 15th day post-MI surgery). The following three dependent variables (duration in minutes) were collected on day 15 post-MI: swimming, trying to escape and being immobile.

Sucrose Preference Test

Decreased sucrose preference over regular tap water is a measure of anhedonia (22, 23). In this test, rats had free access to two bottles of 250 ml for five consecutive days (i.e., 14-18 days post MI): one containing tap water and the other containing a 1% sucrose solution.

The position of the two bottles alternated each day. Volume intake was estimated by weighing bottles each morning, at light onset (6).

Sleep Studies

Twenty-four rats were randomly divided into four groups ($n = 6$ per group) as described above in the “Experimental groups” section. Animals were first anesthetized with ketamine/xylazine (50 mg/kg i.m. and 5 mg/kg i.m., respectively). They were fixed in stereotaxic instrument and then maintained on isoflurane (1.5%) ventilation. EEG electrodes were placed bilaterally with stainless steel screws (diameter = 1.2 mm) in the skull bone over the sensori-motor and frontal cortices; a reference electrode was implanted at midline over the cerebellum. Three EMG electrodes made of fine, flexible, Teflon-coated wire loops (diameter = 0.2 mm, bared 2 mm along the loop) were sown between the *levator scapulae dorsalis* and *acromytrapezius* neck muscles; pairs of EMG electrodes were referenced against each other. All electrodes were attached to a socket (Ginder Scientific, Ottawa, Canada) that was fixed to the skull with dental acrylic cement. The socket was linked to a swivel connector attached to a counter-balancing weight system, enabling the rats to move about freely. Electrophysiological signals were relayed to a Grass Model 78D polygraph, filtered and amplified, before being digitized at 256 Hz and written on disk with a computer-assisted system (Eclipse, Stellate Systems, Montreal, Québec, Canada). After 7 days of post-operative recovery, MI was induced as described above (Methods, section 4) and were implanted. Fourteen days later, rats were connected for 2 days of habituation to the recording equipment under standard housing conditions, and sleep was then recorded for 24 hours. Sleep recordings were initiated after a wake period was enforced by brief, gentle handling at light onset (08:00), for 10 to 15 s.

All animals recovered optimally from MI and sleep surgeries. From the beginning of the study to the end, the general condition of animals were similar to our previous published paper and indicated that there was no signs of pain or heart failure symptoms in MI rats (5).

Analysis of sleep stages

The best two EEG and EMG derivations were selected for the determination of vigilance states, with 10-second epochs. The scoring criteria used were the same as in (5) and the following sleep parameters were considered: awake was scored on the basis of low-voltage, high-frequency (≥ 6 -8 Hz) EEG coupled with high EMG levels. The appearance of slower EEG frequencies, vertex sharp waves and decreased EMG signal was scored as drowsiness. Light SWS (SWS-1) was scored from EEG sleep spindles (5-12 Hz) and more than 20% but less than 50% of EEG delta waves (2-4 Hz) per epoch. Deep SWS (SWS-2) was scored based on predominance of EEG delta waves ($>50\%$ of epochs). Finally, paradoxical sleep (PS) was scored when EEG activity was low-amplitude, stable and dominant theta activity (5-8 Hz), with general EMG atonia. Sleep onset latency is defined as the time elapsed from the beginning of sleep recording at light onset, upon a forced awakening (see above, section 7), to the first occurrence of any sleep stage. The latency to sleep stages is defined as the time elapsed between sleep onset and the first epoch of that stage. The sleep period is the interval between sleep onset and the last sleep epoch of the recording. Total sleep time is the total time spent in any of the sleep stages during the sleep period. Wake time after sleep onset (WASO) is the number of minutes spent in wake during the sleep period. Duration of sleep stages is expressed in minutes. We also considered the following sleep parameters: sleep efficiency is the percentage of sleep time during the sleep period and PS periods are uninterrupted bouts of PS lasting at least 3 minutes and terminated by at least 10 consecutive epochs of SWS or wakefulness. All recognizable PS epochs were computed in terms of duration (min).

Biochemical measures

Radioimmunoassay and Elisa

Blood samples were taken at the onset of sacrifice and centrifuged for 15 minutes at 3000 rpm. The plasma was then collected and frozen at -80°C until radioimmunoassay. Pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6 and TNF- α) and PGE₂ levels were determined by using specific commercial kits from R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN, USA) and Cayman Chemical Company (Ann Arbor, MI, USA), respectively, according to the manufacturers' specifications. Plasma corticosterone levels were determined by radioimmunoassay (RIA) (MP Biomedicals, Santa Ana, CA, USA).

Statistical analyses

Group differences were evaluated with two-way analyses of variance (ANOVA) using MI (with, without) and treatment (with, without) as the two factors. Data was first analyzed for homogeneity of variance and corrected by logarhythmic transformation if necessary; this proved to be the case for TNF- α . When interaction was significant, simple effects were calculated (24).

For sleep studies, data was analyzed for the whole 24-h sleep recording sessions as well as for the 12-hour light and dark periods, separately.

Results are expressed as mean \pm standard error of the mean and $p < 0.05$ was considered significant.

Results

1. Myocardial infarct size and area at risk

The area at risk (i.e., the area of the left ventricle perfused by the left anterior descending coronary artery) was the same in saline-treated and escitalopram-treated MI rats, representing approximately 60% of the left ventricle. The myocardial infarct size was the same in both groups: 42.3 ± 3.0 % of the area at risk for the MI group and 44.2 ± 1.4 % of the area at risk for the MI-escitalopram group (figure 1).

2. Forced Swim Test

Figure 2 illustrates the performance of MI and control sham rats, with and without chronic escitalopram treatment, in the Forced Swim Test. ANOVA indicated a significant interaction between MI and Treatment factors for immobility [$F(1,23) = 4.45$; $p < 0.05$] and swim time [$F(1,23) = 4.29$; $p < .05$]; simple effects of the interaction indicated that escitalopram had no effect on immobility and swim time in sham rats while it decreased immobility [$F(1,24) = 4.54$; $p < 0.05$] and increased swim time [$F(1,24) = 5.45$; $p < 0.05$] in MI rats. No significant variables (MI, Treatment or interaction) were observed for the time trying to escape.

3. Sucrose Preference Test

Total liquid was similar between groups (figure 3A). Figure 3B illustrates the proportion of sucrose intake over total water intake in MI and control sham rats, with and without chronic escitalopram treatment. ANOVA indicated a significant interaction between MI and Treatment [$F(1,22) = 5.84$; $p < 0.05$]; simple effects of the interaction indicated that MI rat drank less sucrose water than sham rats [$F(1,23) = 11.67$; $p < 0.05$] whereas no difference was observed in presence of escitalopram.

4. Sleep

ANOVAs show that, two weeks after MI, the latency to sleep onset was significantly increased in MI rats compared to sham-operated rats ($F(1,20) = 17.39$, $p < 0.001$) while their latency to PS was reduced ($F(1,20) = 7.88$, $p < 0.05$) (Table 1). The analysis of sleep data for the whole 24-hour period revealed that total sleep time was reduced in MI rats compared to Sham rats ($F(1,20) = 4.23$, $p = 0.053$), as well as the number of PS periods ($F(1,20) = 8.78$, $p = 0.008$); the duration of PS only reached a statistical trend toward lower values in MI rats vs. sham rats. The analysis of sleep data for the light phase revealed a significant MI x Treatment interaction for the number of PS periods ($F(1,20) = 8.92$, $p < 0.05$); simple effects analyses showed that escitalopram reduced significantly number of PS periods in sham rats ($F(1,21) = 20.01$; $p < 0.05$) while it had no effect in MI rats ($F(1,21) = 0.16$; $p > 0.05$); the duration of PS only reached a statistical trend toward lower values in MI rats vs. sham rats (Table 2). The only significant variable during the Dark phase was that MI rats displayed significantly less total sleep time compared to Sham controls ($F(1,20) = 4.47$, $p < 0.05$). No other significant data was observed during the dark phase.

5. Cytokines plasma levels

We found a significant effect of the Treatment factor on IL- β plasma levels [$F(1,25) = 5.40$; $p < 0.05$]; Figure 4B]. IL-6 showed no differences among groups. MI and Treatment factors were significant for TNF- α (MI: [$F(1,35) = 5.04$; $p < 0.05$]; Treatment: [$F(1,35) = 6.33$; $p < 0.05$]; Figure 4C and D]. No other differences were observed.

6. PGE₂ and corticosterone plasma levels

There were significant MI and Treatment simple effects on PGE₂ plasma levels (MI: [$F(1,35) = 12.81$; $p < 0.05$]; Treatment [$F(1,35) = 7.22$; $p < 0.05$]; Figure 5B and C] but no interaction. Main effect analyses revealed that PGE₂ levels were higher in MI rats and that

escitalopram reduced PGE₂ levels in both groups of rats (figure 5B and C). MI induced a significant increase of corticosterone plasma levels [$F(1,22) = 7.70$; $p < 0.05$; figure 6B] whereas no significant effect of Treatment nor interaction were detected (figure 6).

Discussion

The present report indicates that elements of the rat post-MI syndrome are reversed by escitalopram through a mechanism that could involve a reduction of pro-inflammatory cytokines and PGE₂. Like in our previous report on the SSRI sertraline (7), escitalopram had no effect on MI size. This is a prerequisite to ascertain the specificity and selectivity of the biochemical and behavioral differences reported here. Indeed, the timing of treatment relative to the reperfusion period is a critical variable (25) because cardioprotection needs the activation of the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK) pathway right at the onset of the reperfusion period (26). It is known that higher serotonin levels, which can be induced by SSRIs, can reduce infarct size by activating on PI3-kinase and/or the ERK pathway (27). The fact that we started the treatment phase right after the onset of reperfusion thus prevented any potential effect of escitalopram on MI size, in addition of making the protocol more clinically relevant.

Symptoms of depression were evaluated by the Forced Swim Test and the Sucrose Preference Test. In the Forced Swim Test, we found that MI-treated rats swam less and were more immobile. The fact that rats tried to escape as much as controls shows once again that physical capacity is not involved in the effect of various antidepressants on Forced Swim Test performance in MI rats (6, 7, 28, 29). The positive results (swim time, immobility) are in the same direction as those shown by other authors with a number of antidepressants, including selective noradrenergic reuptake inhibitors and SSRIs (30-32). Compared to sham controls, MI rats showed behavioural signs of anhedonia expressed by decreased sucrose intake similar to those observed in other animal models such as chronic mild stress (33-35), social defeat or subordination (36) and a genetic animal model of

depression (37). The present results thus show that MI impairs motivation and responsiveness to reward, leading to the development of behavioural despair and anhedonia which can be blocked by SSRIs including escitalopram.

The result of sleep recordings in MI rats replicated our previous observations (5) and was characterized, compared to sham operated control rats, by signs of dyssomnia equivalent to those described in human depression (38, 39) and animal models of depression (40-44), including insomnia (increased sleep latency and decreased total sleep time) and shortened PS latency compared to sham-operated control rats. Escitalopram had no significant effect on these sleep parameters in MI rats, showing that the depression-like patterns of sleep in MI rats cannot be reversed by all SSRIs, contrary to what is generally reported (45-46). The present results are also different from those of Sanchez et al (47) who observed only limited effects of escitalopram on sleep in healthy rats, mainly a transient increase of SWS-2 (and no effects on PS); methodological differences with ours are that an acute regimen (1 administration) and much smaller doses were used (1.0 and 2.0 mg/kg), in much younger rats (200-250 g, compared to 350-375 g here). In humans, it has been reported on one hand that sleep after MI (48-50) and sleep in depressed patients (38, 51, 52) share some features such as long sleep latencies and sleep maintenance difficulties, with high amounts of wakefulness and poor sleep efficiency. On the other hand the two groups are different on REM sleep duration and the number of REM sleep periods, which are decreased in post-MI patients (48-50) and increased in depressed patients (38, 51, 52). Here, the values of PS duration and the number of PS periods of MI rats were respectively decreased by 20% and 30% in the light phase compared to controls but this difference did not reach statistical significance using Anova analyses, contrary to our previous results (5) with t-tests. Escitalopram did not decrease the already low values of PS duration and number of PS periods in MI rats but it did so in controls rats. This shows that escitalopram is capable to inhibit PS in non depressed rats.

Biochemical measures showed that circulating levels of IL-1 β , TNF- α , PGE₂ and corticosterone were increased in MI rats compared to controls. This reproduces findings in humans with increased plasma cytokine in depressed patients (73). Our data also indicated an elevation of corticosterone levels, reflecting the human findings after myocardial infarction (74). It has been shown that pro-inflammatory cytokines are potent activators of the HPA axis possibly through an increase in the secretion of CRH (75). In our model, cytokines have probably less important effect in the activation of HPA axis as compared to MI since escitalopram, which reduced circulating pro-inflammatory cytokines, had no effects on corticosterone levels. Different studies indicated that cortisol levels are slightly affected by SSRIs during the first hours/weeks of treatment such as in our study (76, 77). In contrast, long-term effects of SSRIs on cortisol levels have been documented, possibly due to the reestablishment of glucocorticoid receptor sensitivity, restoring negative feedback by cortisol on the HPA axis (78, 79). A possible hypothesis to explain the absence of modulation of corticosterone by escitalopram could be related to the duration of the reperfusion period we used and differences could have been observed upon a longer period of reperfusion.

PGE₂ levels were increased in MI rats at baseline. It is known that PGE₂ can be increased with MI (80, 81). There is no data suggesting a direct effect of escitalopram on PGE₂. We hypothesize that the reduction of PGE₂ by escitalopram reported here could be due to an effect through pro-inflammatory cytokines. Indeed, circulating cytokines trigger the transcription of genes in cells of the blood-brain barrier including NF- κ B and COX-2, the limiting enzyme for the formation of prostaglandins (82). Further data are needed to confirm this hypothesis.

We observed that IL-6 levels were not affected by escitalopram. This contrasts with the results of Basterzi et al (12) who showed that SSRIs could reduce IL-6 levels in depressed patients. Even though this paper did not report, just like ours, differences in IL-6 levels between the depression group and controls at baseline, six weeks of treatment with

unspecified SSRIs induced a significant reduction of IL-6 levels suggesting that long-term treatment should be tested in our model

We found no interaction between escitalopram and MI on IL-1 β and TNF- α levels, suggesting that both variables act independently on cytokine synthesis. Cytokines exert a wide spectrum of actions, including the modulation of synthesis and action of a number of biological mediators (eicosanoids, nitric oxide, Ang II or their receptors) as well as other proinflammatory cytokines. Studies have shown that antidepressants exert their therapeutic effects through different mechanisms (83-87) and some of them (tricyclic antidepressants and SSRIs) can induce apoptosis (88-90), but the precise mechanisms underlying antidepressant-induced cell damage are unknown, although an anti-inflammatory effect may be possible via a caspase-3-dependent pathway (91) or the NF- κ B activity inhibition (92).

Conclusion

Overall, our data indicate that escitalopram has no effects on infarct size and can reverse the depressive behavior observed after MI by a mechanism that could involve a reduction of pro-inflammatory cytokines. In terms of mood regulation, cytokines have also been shown to alter the metabolism of key monoamines, including serotonin, norepinephrine, and dopamine, all of which are believed to play a role in mood disorders (71, 93). However, escitalopram has a reduced effect on sleep disturbance after MI indicating that SSRIs alone may not be sufficient to treat sleep disturbances after MI in coronary heart disease depressed patients. Escitalopram was associated with decreases in TNF- α , IL-1 β and PGE₂, which can be related to its behavior since a diminution of pro-inflammatory cytokines has been reported with SSRIs in depressed humans as well as in animal models (94, 95). Additional animal and human studies are needed to further characterize the time course of sleep profile after MI as well as the impact of various factors intimately linked to post-MI depression and brain plasticity, such as the impact of anxiety and stress.

Strengths and Limitations of the Study

One limitation of this study is the lack of assessment of escitalopram stability in the osmotic minipumps for the whole treatment period. However, since we observed significant changes as well as behavioral and biochemical measures, we believe that there are enough active compounds at the end of the experiment to induce beneficial effects. Another limitation of this study is that direct insult to the brain, caused by hypoxia during the MI procedure, may have contributed to the results and need to further investigated.

Acknowledgements

This research was partly supported by a grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada to R.G. and by H. Lundbeck A/S. T.M.B. was holding studentships from *Fonds de la recherche en santé du Québec* (FRSQ) and the J.A. DeSève Foundation. G.R. is a Research Scholar of the FRSQ. We are grateful to Pierre Fortier, Élyse Chevrier, Louis Chiocchio, and Caroline Bouchard for their skillful assistance and technical expertise. We also wish to thank Boubacar Pasto Wann, Ph.D, Stéphanie Anne-Girard, M.Sc. and Laura Lada-Moldovan, M.Sc. for their help and advice.

Financial disclosures

This was an industry-supported study, but the authors have indicated no financial conflicts of interest.

Table/Figure Legends

Table 1. Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) for 24 hours of recording, with and without MI, with and without escitalopram (n=6/group). SWS-1, light Slow wave Sleep; SWS-2, deep Slow wave Sleep; PS, Paradoxical Sleep.

Table 2. Sleep organization (mean \pm standard error of the mean) during the light phase, with and without MI, with and without escitalopram (n=6/group). SWS-1, light Slow wave Sleep; SWS-2, deep Slow wave Sleep; PS, Paradoxical Sleep.

Figure 1. Myocardial infarct size (I), expressed as a percentage of the area at risk (AR), shows no difference between groups. AR, expressed as a percentage of the left ventricle (LV) is similar between groups. n = 9-10 per group.

Figure 2. Performance of the rats in the Forced swim test for the 4 different groups. Escape time was similar between groups whereas MI rats show more immobility and less Swimming than the other groups. n = 6-7 per group. * indicates a significant difference between MI groups.; p < 0.05.

Figure 3. Sucrose Preference Test (calculated over 5 days). A) Total liquid intake. No significant difference was observed between groups. B) Percent of sucrose intake. * indicates a significant difference between MI groups; p < 0.05. n = 6-7 per group.

Figure 4. A) Circulating concentration of pro-inflammatory cytokines in the different groups (n = 5 -10 per group). B) Main effect of Treatment on plasmatic concentrations of IL-1 β . C) Main effects of MI and D) Treatment on plasmatic concentrations of TNF- α . *p < 0.05 between groups.

Figure 5. A) Circulating concentration of PGE2 in the different groups (n = 9-10 per group). B) Main effect of MI and C) Treatment on plasmatic concentrations of PGE2 *p < 0.05 between groups.

Figure 6. A) Circulating concentration of corticosterone in the different groups (n = 6-7 per group). B) Main effect of MI on plasmatic concentrations of corticosterone. *p <0.05 between groups.

Table 1.

Sleep parameters	Group Data (24 hours)				Treatment	Condition	Interaction
	Sham + Saline	MI + Saline	Sham + Escit.	MI + Escit.			
Sleep latency (min)	7.50 ± 2.35	18.58 ± 2.35	11.27 ± 2.35	19.80 ± 2.35	NS	F(1,20) = 17.39 p < 0.001	NS
Total sleep time (min)	968.25 ± 50.73	805.44 ± 50.73	868.25 ± 50.73	822.36 ± 50.73	NS	F(1,20) = 4.23 p = 0.053	NS
Sleep efficiency (%)	67.78 ± 3.61	56.97 ± 3.61	60.82 ± 3.61	58.04 ± 3.61	NS	NS	NS
Drowsy (min)	390.25 ± 46.27	236.55 ± 46.27	282.69 ± 46.27	283.58 ± 46.27	NS	NS	NS
SWS-1 (min)	462.33 ± 35.30	459.25 ± 35.30	493.66 ± 35.30	447.33 ± 35.30	NS	NS	NS
SWS-2 (min)	20.02 ± 7.62	29.19 ± 7.62	13.27 ± 7.62	10.25 ± 7.62	NS	NS	NS
PS latency (min)	41.78 ± 7.41	25.89 ± 7.41	51.69 ± 7.41	25.97 ± 7.41	NS	F(1,20) = 7.88 p < 0.05	NS
PS duration (min)	95.63 ± 3.65	80.44 ± 3.65	78.61 ± 3.65	81.19 ± 3.65	NS	NS	NS
PS periods (number)	64.00 ± 5.28	48.33 ± 5.28	38.17 ± 5.28	42.83 ± 5.28	F(1,20) = 8.78 p < 0.01	NS	NS

Table 2.

Sleep parameters	Group Data (Light phase)				Treatment	Condition	Interaction
	Sham + Saline	MI + Saline	Sham + Escit.	MI + Escit.			
Sleep latency (min)	Same data as in Table 1						
Total sleep time (min)	579.94 ± 23.00	524.38 ± 23.00	546.22 ± 23.00	529.66 ± 23.00	NS	NS	NS
Sleep efficiency (%)	81.84 ± 1.33	75.53 ± 1.33	78.14 ± 1.33	76.35 ± 1.33	NS	NS	NS
Drowsy (min)	198.13 ± 24.62	139.86 ± 24.62	153.17 ± 24.62	156.31 ± 24.62	NS	NS	NS
SWS-1 (min)	296.77 ± 23.31	303.72 ± 23.31	330.50 ± 23.31	307.36 ± 23.31	NS	NS	NS
SWS-2 (min)	15.92 ± 6.79	24.06 ± 6.79	10.83 ± 6.79	7.19 ± 6.79	NS	NS	NS
PS latency (min)	Same data as in Table 1						
PS duration (min)	74.69 ± 6.84	59.17 ± 6.84	52.69 ± 6.84	61.97 ± 6.84	NS	NS	NS
PS periods (number)	43.83 ± 2.84	30.83 ± 2.84	25.16 ± 2.84	29.16 ± 2.84	F(1,20) = 12.76 p < 0.05	NS	F(1,20) = 8.92 p < 0.05

References

1. Guck TP, Kavan MG, Elsasser GN, Barone EJ (2001): Assessment and treatment of depression following myocardial infarction. *Am Fam Physician*. 64:641-648.
2. Frasure-Smith N, Lesperance F (2003): Depression and other psychological risks following myocardial infarction. *Arch Gen Psychiatry*. 60:627-636.
3. Frasure-Smith N, Lesperance F, Gravel G, Masson A, Juneau M, Talajic M, et al. (2000): Social support, depression, and mortality during the first year after myocardial infarction. *Circulation*. 101:1919-1924.
4. Lane D, Carroll D, Ring C, Beevers DG, Lip GY (2001): Mortality and quality of life 12 months after myocardial infarction: effects of depression and anxiety. *Psychosom Med*. 63:221-230.
5. Bah T, Laplante F, Wann B, Sullivan R, Rousseau G, Godbout R (2010): Paradoxical sleep insomnia and decreased cholinergic neurons after myocardial infarction in the rats. *Sleep*. 33:MS# SP-00505-00509.
6. Wann BP, Bah TM, Boucher M, Courtemanche J, Le Marec N, Rousseau G, et al. (2007): Vulnerability for apoptosis in the limbic system after myocardial infarction in rats: a possible model for human postinfarct major depression. *J Psychiatry Neurosci*. 32:11-16.
7. Wann BP, Bah TM, Kaloustian S, Boucher M, Dufort AM, Le Marec N, et al. (2009): Behavioural signs of depression and apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: effects of sertraline. *J Psychopharmacol*. 23:451-459.
8. Wann BP, Boucher M, Kaloustian S, Nim S, Godbout R, Rousseau G (2006): Apoptosis detected in the amygdala following myocardial infarction in the rat. *Biol Psychiatry*. 59:430-433.
9. Kaloustian S, Wann BP, Bah TM, Falcao S, Dufort AM, Ryvlin P, et al. (2007): Celecoxib after the onset of reperfusion reduces apoptosis in the amygdala. *Apoptosis*. 12:1945-1951.
10. Kaloustian S, Bah TM, Rondeau I, Mathieu S, Lada-Moldovan L, Ryvlin P, et al. (2009): Tumor necrosis factor-alpha participates in apoptosis in the limbic system after myocardial infarction. *Apoptosis*. 14:1308-1316.
11. Bareggi SR, Mundo E, Dell'Osso B, Altamura AC (2007): The use of escitalopram beyond major depression: pharmacological aspects, efficacy and tolerability in anxiety disorders. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 3:741-753.

12. Basterzi AD, Aydemir C, Kisa C, Aksaray S, Tuzer V, Yazici K, et al. (2005): IL-6 levels decrease with SSRI treatment in patients with major depression. *Hum Psychopharmacol*. 20:473-476.
13. Hoschl C, Svestka J (2008): Escitalopram for the treatment of major depression and anxiety disorders. *Expert Rev Neurother*. 8:537-552.
14. Kapsimalis F, Richardson G, Opp MR, Kryger M (2005): Cytokines and normal sleep. *Curr Opin Pulm Med*. 11:481-484.
15. Kubera M, Simbirtsev A, Mathison R, Maes M (2000): Effects of repeated fluoxetine and citalopram administration on cytokine release in C57BL/6 mice. *Psychiatry Res*. 96:255-266.
16. Maes M (2001): The immunoregulatory effects of antidepressants. *Hum Psychopharmacol*. 16:95-103.
17. Giulian D (1997): *Primer on Cerebrovascular Disease*. Academic press.
18. Höschl C, Svestka J (2008): Escitalopram for the treatment of major depression and anxiety disorders. *Expert Rev Neurother*. 8:537-552.
19. Stahl S, Gergel I, Dayong L (2003): Escitalopram in the treatment of panic disorder: a randomized, double-blind, placebo controlled trial. *J Clin Psychiatry*. 64:1322-1327.
20. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M (1978): Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*. 47:379-391.
21. West AP (1990): Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 14:863-877.
22. Redei EE, Ahmadiyeh N, Baum AE, Sasso DA, Slone JL, Solberg LC, et al. (2001): Novel animal models of affective disorders. *Semin Clin Neuropsychiatry*. 6:43-67.
23. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R (1987): Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*. 93:358-364.
24. Field A (2009): *Discovering statistics using SPSS*. Third edition ed.: SAGE Edition.
25. Boucher M, Pesant S, Falcao S, de Montigny C, Schampaert E, Cardinal R, et al. (2004): Post-ischemic cardioprotection by A2A adenosine receptors: dependent of phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Cardiovasc Pharmacol*. 43:416-422.

26. Hausenloy DJ, Yellon DM (2004): New directions for protecting the heart against ischaemia-reperfusion injury: targeting the Reperfusion Injury Salvage Kinase (RISK)-pathway. *Cardiovasc Res.* 61:448-460.
27. Nebigil CG, Etienne N, Messaddeq N, Maroteaux L (2003): Serotonin is a novel survival factor of cardiomyocytes: mitochondria as a target of 5-HT_{2B} receptor signaling. *FASEB J.* 17:1373-1375.
28. Kusmider M, Solich J, Palach P, Dziedzicka-Wasylewska M (2007): Effect of citalopram in the modified forced swim test in rats. *Pharmacol Rep.* 59:785-788.
29. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M (1978): "Behavioural despair" in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur J Pharmacol.* 51:291-294.
30. El Khoury A, Gruber SH, Mork A, Mathe AA (2006): Adult life behavioral consequences of early maternal separation are alleviated by escitalopram treatment in a rat model of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 30:535-540.
31. López-Rubalcava C, Lucki I. (2000): Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology.* 22:191-199.
32. Piubelli C, Vighini M, Mathe AA, Domenici E, Carboni L (2010): Escitalopram modulates neuron-remodelling proteins in a rat gene-environment interaction model of depression as revealed by proteomics. Part I: genetic background. *Int J Neuropsychopharmacol.* 1-38.
33. Grippio AJ, Beltz TG, Weiss RM, Johnson AK (2006): The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia. *Biol Psychiatry.* 59:309-316.
34. Moreau JL (1997): [Validation of an animal model of anhedonia, a major symptom of depression]. *Encephale.* 23:280-289.
35. Willner P (1997): Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl).* 134:319-329.
36. Rygula R, Abumaria N, Flugge G, Fuchs E, Ruther E, Havemann-Reinecke U (2005): Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behav Brain Res.* 162:127-134.
37. Overstreet DH (1993): The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 17:51-68.

38. Abad VC, Guilleminault C (2005): Sleep and psychiatry. *Dialogues Clin Neurosci.* 7:291-303.
39. Benca RM (1996): Sleep in psychiatric disorders. *Neurol Clin.* 14:739-764.
40. Song C, Leonard BE (2005): The olfactory bulbectomised rat as a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 29:627-647.
41. Willner P (2005): Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology.* 52:90-110.
42. Adrien J, Dugovic C, Martin P (1991): Sleep-wakefulness patterns in the helpless rat. *Physiol Behav.* 49:257-262.
43. Vogel G, Neill D, Hagler M, Kors D (1990): A new animal model of endogenous depression: a summary of present findings. *Neurosci Biobehav Rev.* 14:85-91.
44. Overstreet DH, Friedman E, Mathe AA, Yadid G (2005): The Flinders Sensitive Line rat: a selectively bred putative animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 29:739-759.
45. Hicks JA, Argyropoulos SV, Rich AS, Nash JR, Bell CJ, Edwards C, et al. (2002): Randomised controlled study of sleep after nefazodone or paroxetine treatment in out-patients with depression. *Br J Psychiatry.* 180:528-535.
46. Jindal RD, Friedman ES, Berman SR, Fasiczka AL, Howland RH, Thase ME (2003): Effects of sertraline on sleep architecture in patients with depression. *J Clin Psychopharmacol.* 23:540-548.
47. Sanchez C, Brennum LT, Storustovu S, Kreilgard M, Mork A (2007): Depression and poor sleep: the effect of monoaminergic antidepressants in a pre-clinical model in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 86:468-476.
48. BaHammam A (2006): Sleep quality of patients with acute myocardial infarction outside the CCU environment: a preliminary study. *Med Sci Monit.* 12:CR168-172.
49. Broughton R, Baron R (1978): Sleep patterns in the intensive care unit and on the ward after acute myocardial infarction. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 45:348-360.
50. Schiza SE, Simantirakis E, Bouloukaki I, Mermigkis C, Arfanakis D, Chrysostomakis S, et al. (2010): Sleep patterns in patients with acute coronary syndromes. *Sleep Med.* 11:149-153.

51. Cartwright RD, Wood E (1991): Adjustment disorders of sleep: the sleep effects of a major stressful event and its resolution. *Psychiatry Res.* 39:199-209.
52. Mendlewicz J (2009): Sleep disturbances: core symptoms of major depressive disorder rather than associated or comorbid disorders. *World J Biol Psychiatry.* 10:269-275.
53. Lader M, Andersen HF, Baekdal T (2005): The effect of escitalopram on sleep problems in depressed patients. *Hum Psychopharmacol.* 20:349-354.
54. Benca RM, Obermeyer WH, Shelton SE, Droster J, Kalin NH (2000): Effects of amygdala lesions on sleep in rhesus monkeys. *Brain Res.* 879:130-138.
55. Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA, Gillin JC (1992): Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry.* 49:651-668; discussion 669-670.
56. Gervasoni D, Panconi E, Henninot V, Boissard R, Barbagli B, Fort P, et al. (2002): Effect of chronic treatment with milnacipran on sleep architecture in rats compared with paroxetine and imipramine. *Pharmacol Biochem Behav.* 73:557-563.
57. Monaca C, Boutrel B, Hen R, Hamon M, Adrien J (2003): 5-HT_{1A}/1B receptor-mediated effects of the selective serotonin reuptake inhibitor, citalopram, on sleep: studies in 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} knockout mice. *Neuropsychopharmacology.* 28:850-856.
58. Neckelmann D, Bjorvatn B, Bjorkum AA, Ursin R (1996): Citalopram: differential sleep/wake and EEG power spectrum effects after single dose and chronic administration. *Behav Brain Res.* 79:183-192.
59. Brown AD, Barton DA, Lambert GW (2009): Cardiovascular abnormalities in patients with major depressive disorder: autonomic mechanisms and implications for treatment. *CNS Drugs.* 23:583-602.
60. Frasere-Smith N, Lesperance F, Irwin MR, Sauve C, Lesperance J, Theroux P (2007): Depression, C-reactive protein and two-year major adverse cardiac events in men after acute coronary syndromes. *Biol Psychiatry.* 62:302-308.
61. Schins A, Tulner D, Lousberg R, Kenis G, Delanghe J, Crijns HJ, et al. (2005): Inflammatory markers in depressed post-myocardial infarction patients. *J Psychiatr Res.* 39:137-144.
62. Ter Horst GJ (2000): *The nervous system and the heart*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc.
63. Leonard BE, Myint A (2009): The psychoneuroimmunology of depression. *Hum Psychopharmacol.* 24:165-175.

64. Dantzer R (2009): Cytokine, sickness behavior, and depression. *Immunol Allergy Clin North Am.* 29:247-264.
65. Konsman JP, Parnet P, Dantzer R (2002): Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. *Trends Neurosci* 25:154-159.
66. Dantzer R (2001): Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann N Y Acad Sci.* 933:222-234.
67. Müller N, Schwarz MJ (2007): The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. *Mol Psychiatry.* 12:988-1000.
68. Dantzer R (2001): Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand? *Brain Behav Immun.* 15:7-24.
69. Kent S, Bluthé RM, Kelley KW, Dantzer R (1992): Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sci.* 13:24-28.
70. Besedovsky H, del Rey A, Sorkin E, CA D (1986): Immunoregulatory feedback between interleukin-1 and glucocorticoid hormones. *Science.* 233:652-654.
71. Capuron L, Miller AH (2004): Cytokines and psychopathology: lessons from interferon-alpha. *Biol Psychiatry.* 56:819-824.
72. Rothwell NJ, Luheshi GN (2000): Interleukin 1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target. *Trends Neurosci.* 12:618-625.
73. Connor TJ, Leonard BE (1998): Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci.* 62:583-606.
74. Nito I, Waspadji S, Harun S, Markum HM (2004): Correlation between cortisol levels and myocardial infarction mortality among intensive coronary care unit patients during first seven days in hospital. *Acta Med Indones.* 36:8-14.
75. Leonard BE (2001): The immune system, depression and the action of antidepressants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 25:767-780.
76. Bundgaard C, Larsen F, Jorgensen M, Mork A (2007): Pharmacokinetic/pharmacodynamic feedback modelling of the functional corticosterone response in rats after acute treatment with escitalopram. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 100:182-189.

77. Hernandez ME, Mendieta D, Martinez-Fong D, Loria F, Moreno J, Estrada I, et al. (2008): Variations in circulating cytokine levels during 52 week course of treatment with SSRI for major depressive disorder. *Eur Neuropsychopharmacol.* 18:917-924.
78. Papiol S, Arias B, Gasto C, Gutierrez B, Catalan R, Fananas L (2007): Genetic variability at HPA axis in major depression and clinical response to antidepressant treatment. *J Affect Disord.* 104:83-90.
79. Nikisch G, Mathe AA, Czernik A, Thiele J, Bohner J, Eap CB, et al. (2005): Long-term citalopram administration reduces responsiveness of HPA axis in patients with major depression: relationship with S-citalopram concentrations in plasma and cerebrospinal fluid (CSF) and clinical response. *Psychopharmacology (Berl).* 181:751-760.
80. Calabresi L, Rossoni G, Gomaschi M, Sisto F, Berti F, Franceschini G (2003): High-density lipoproteins protect isolated rat hearts from ischemia-reperfusion injury by reducing cardiac tumor necrosis factor-alpha content and enhancing prostaglandin release. *Circ Res.* 92:330-337.
81. Berger HJ, Zaret BL, Speroff L, Cohen LS, Wolfson S (1976): Regional cardiac prostaglandin release during myocardial ischemia in anesthetized dogs. *Circ Res.* 38:566-571.
82. Laflamme N, Lacroix S, Rivest S (1999): An essential role of interleukin-1beta in mediating NF-kappaB activity and COX-2 transcription in cells of the blood-brain barrier in response to a systemic and localized inflammation but not during endotoxemia. *J Neurosci.* 19:10923-10930.
83. Goodwin GM (1992): *Tricyclic and newer antidepressants. In Handbook of Affective Disorders.* Paykel, E.S. ed. Edinburgh, London, Madrid, Melbourne, New York, Tokyo, Churchill Livingstone.
84. Gram LF (1994): Fluoxetine. *N Engl J Med.* 17:1354-1361.
85. Holsboer F, Barden N (1996): Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocr Rev.* 17:187-205.
86. Seckl JR, Fink G (1992): Antidepressants increase glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA expression in rat hippocampus in vivo. *Neuroendocrinology.* 55:621-626.
87. Sulser F (1989): New perspectives on the molecular pharmacology of affective disorders. *Eur Arch Psychiatr Neurol Sci.* 238.

88. Spanova A, Kovaru H, Lisa V, Lukasova E, Rittich B (1997): Estimation of apoptosis in C6 glioma cells treated with antidepressants. *Physiol Res.* 161-164.
89. Xia Z, Depierre JW, Nassberger L (1996): The tricyclic antidepressants clomipramine and citalopram induce apoptosis in cultured human lymphocytes. *J Pharm Pharmacol.* 48:115-116.
90. Xia Z, DePierre JW, Nassberger L (1998): Modulation of apoptosis induced by tricyclic antidepressants in human peripheral lymphocytes. *J Biochem Mol Toxicol.* 12:115-123.
91. Xia Z, Lundgren B, Bergstrand A, DePierre JW, Nassberger L (1999): Changes in the generation of reactive oxygen species and in mitochondrial membrane potential during apoptosis induced by the antidepressants imipramine, clomipramine, and citalopram and the effects on these changes by Bcl-2 and Bcl-X(L). *Biochem Pharmacol.* 57:1199-1208.
92. Jin Y, Lim CM, Kim SW, Park JY, Seo JS, Han PL, et al. (2009): Fluoxetine attenuates kainic acid-induced neuronal cell death in the mouse hippocampus. *Brain Res.* 1281:108-116.
93. Simmons DA, Broderick PA (2005): Cytokines, stressors, and clinical depression: augmented adaptation responses underlie depression pathogenesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 29:793-807.
94. Tucker P, Ruwe WD, Masters B, Parker DE, Hossain A, Trautman RP, et al. (2004): Neuroimmune and cortisol changes in selective serotonin reuptake inhibitor and placebo treatment of chronic posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry.* 56:121-128.
95. O'Brien SM, Scully P, Fitzgerald P, Scott LV, Dinan TG (2007): Plasma cytokine profiles in depressed patients who fail to respond to selective serotonin reuptake inhibitor therapy. *J Psychiatr Res.* 41:326-331.

FIGURE 1

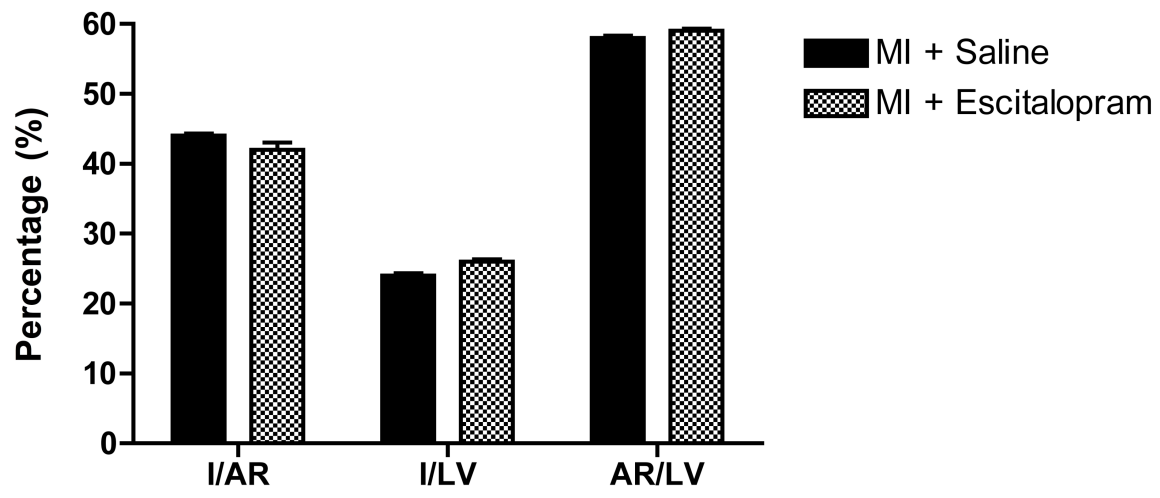


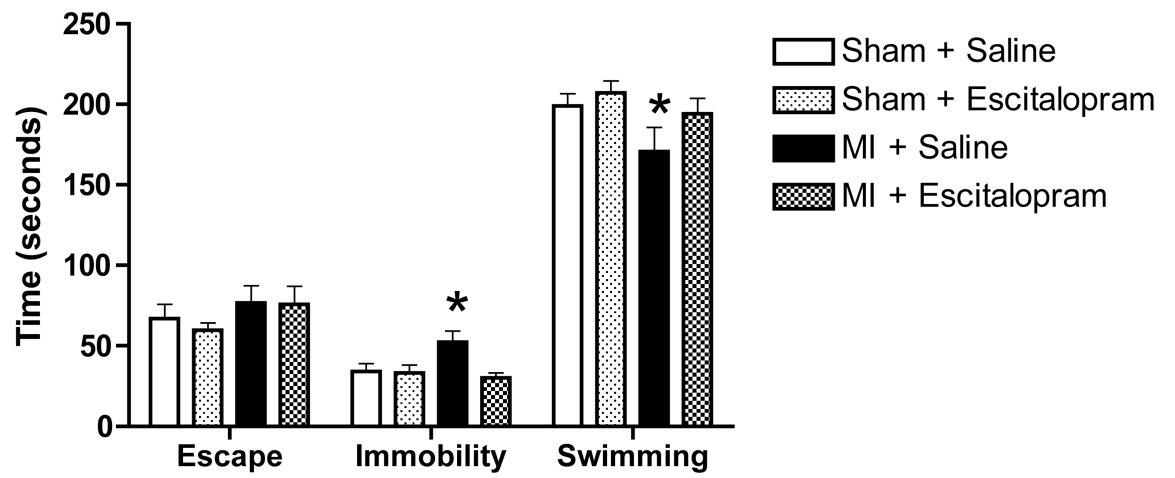
FIGURE 2

FIGURE 3

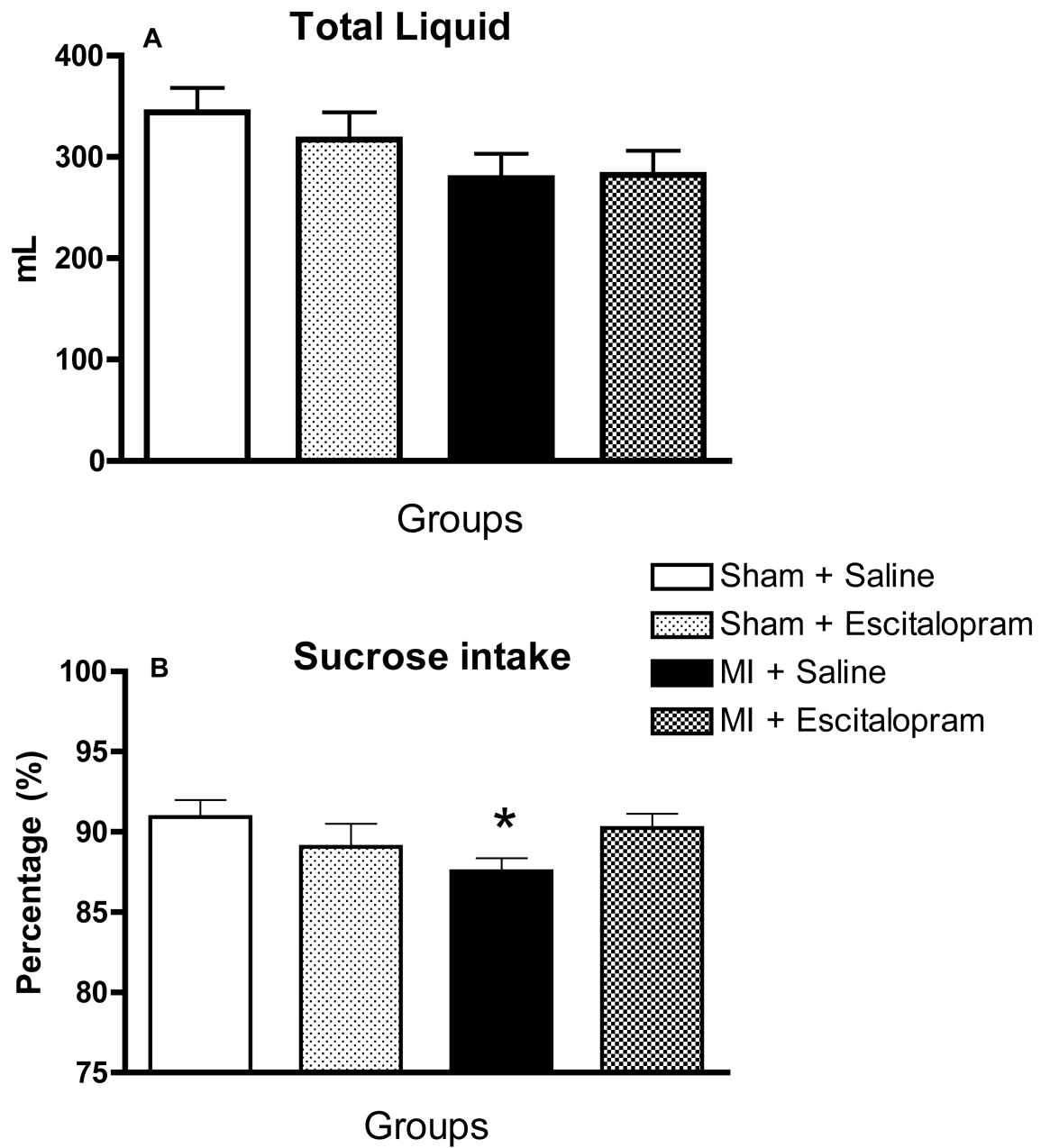


FIGURE 4

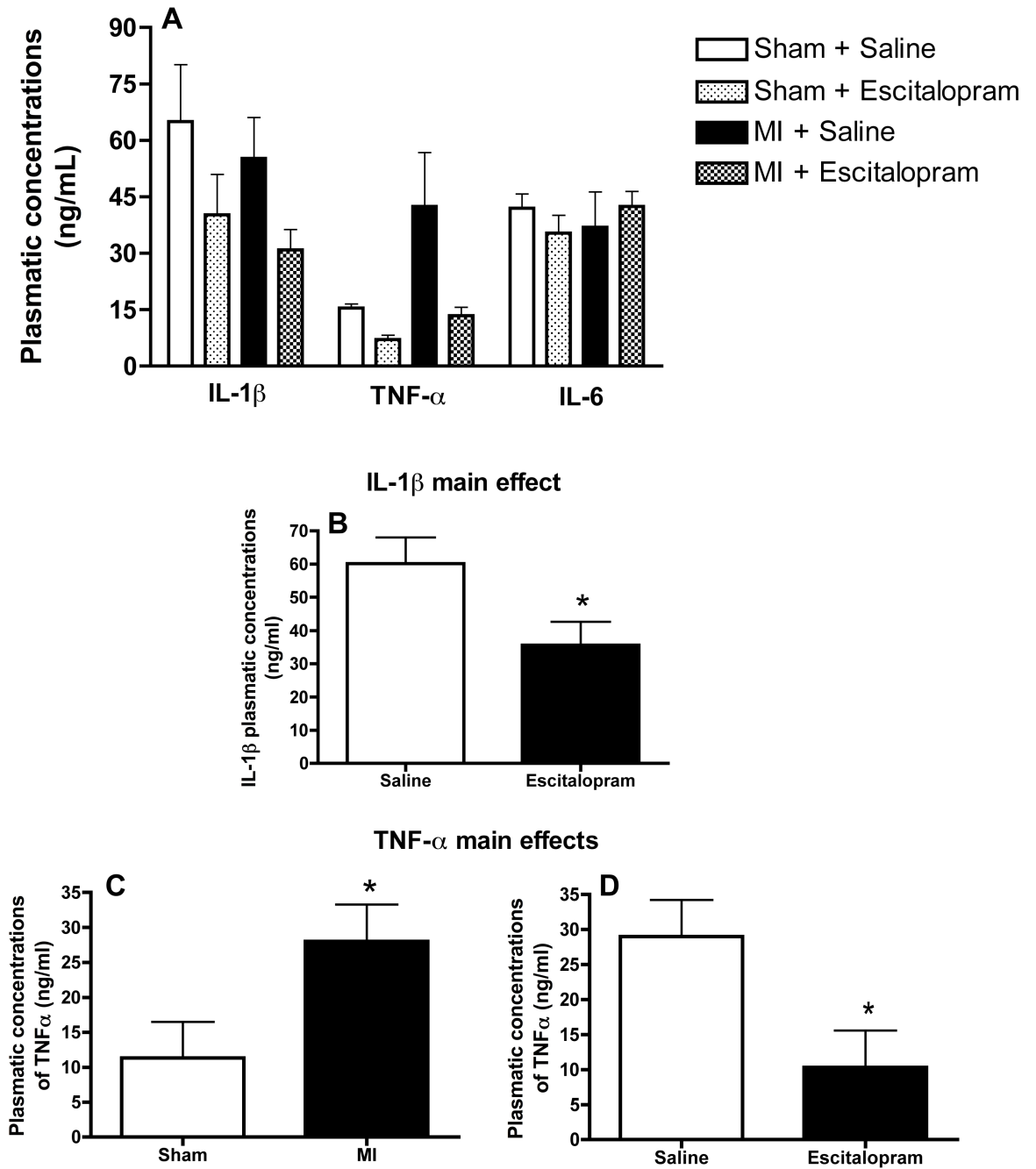


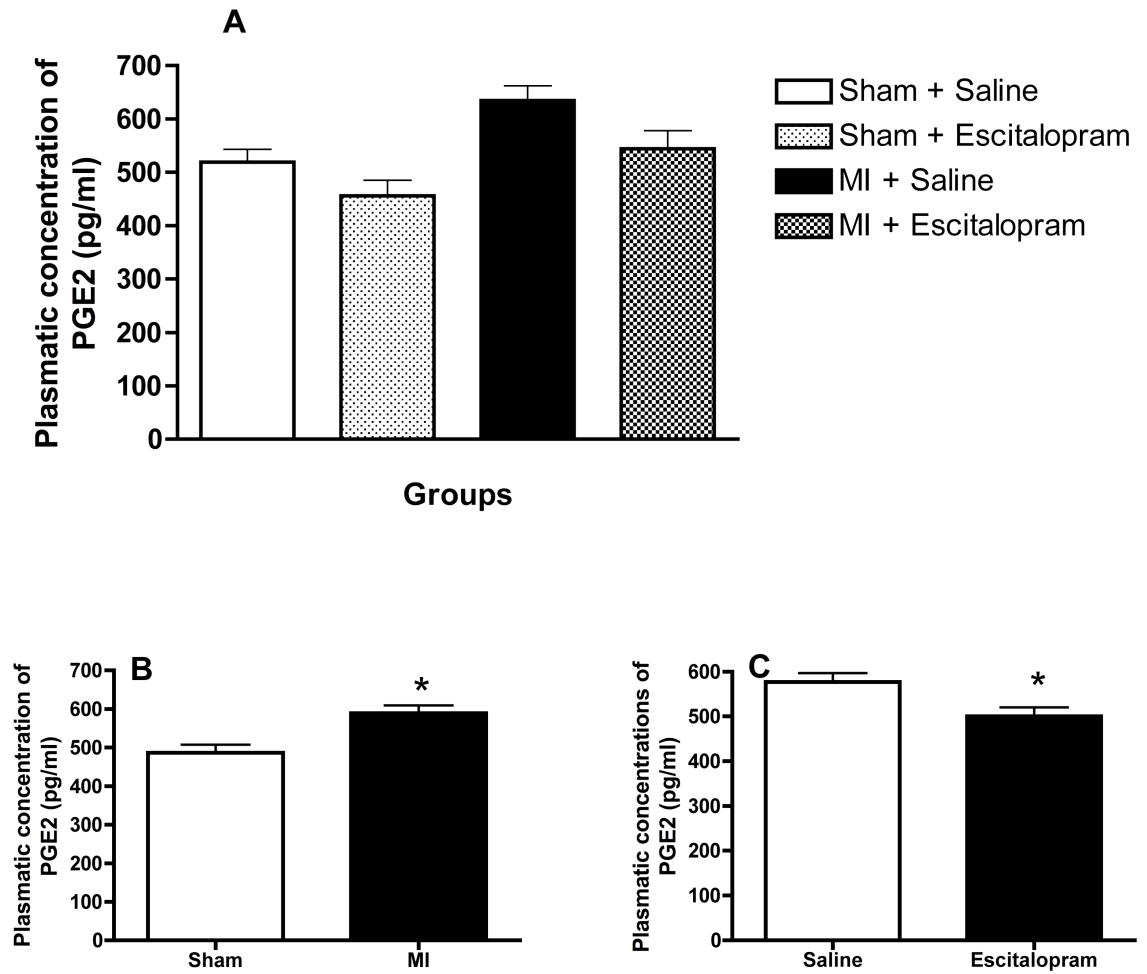
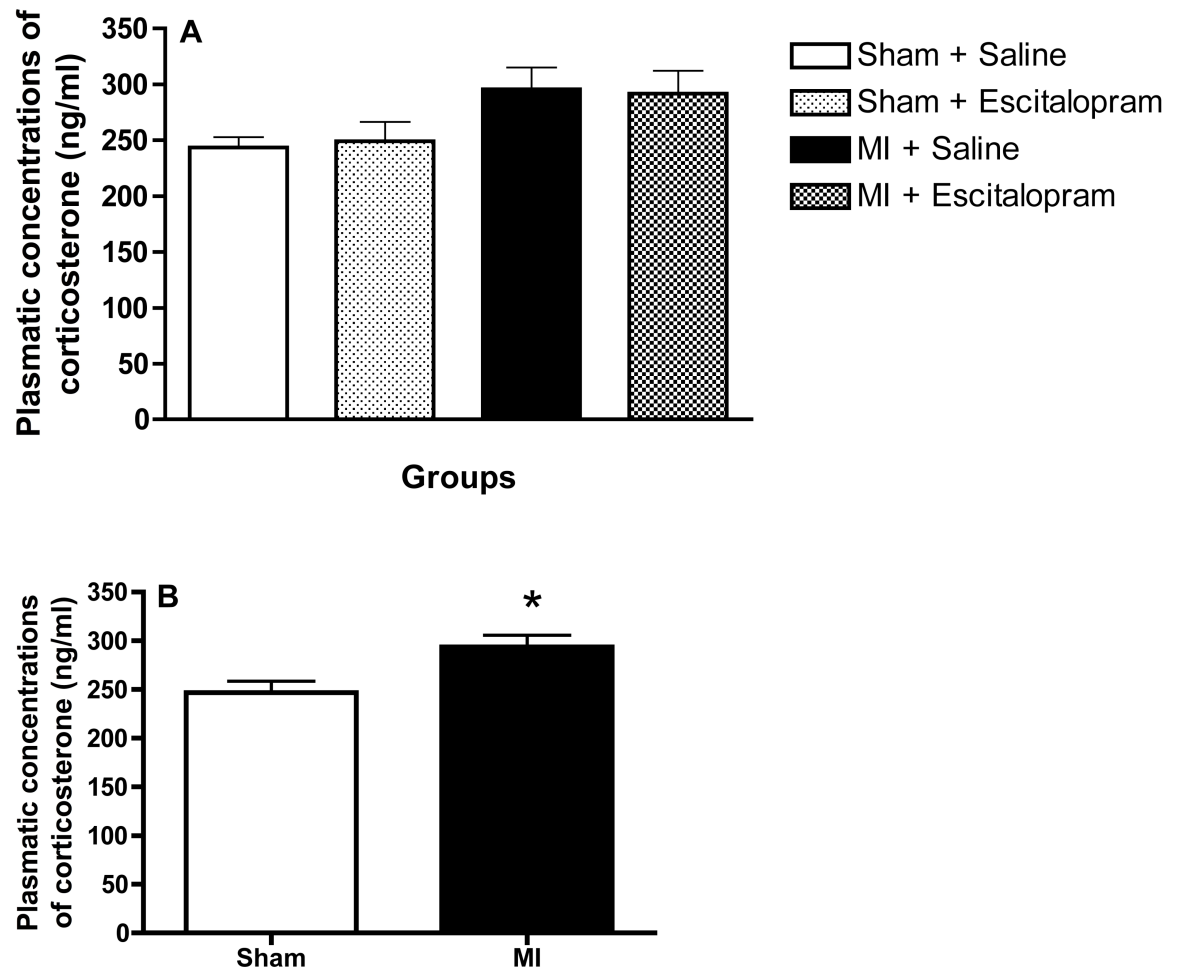
FIGURE 5

FIGURE 6

4.3. Préface de la troisième étude

Finalement la troisième étude aboutira à l'article intitulé "*Pentoxifylline Exerts an Antidepressant-like Effect Following Acute Myocardial Infarction in the Rat*". Les cytokines proinflammatoires étant suspectées être en partie à l'origine du syndrome comportemental dépressif post-infarctus dans notre modèle animal, nous voulions savoir si l'inhibition de l'activité des cytokines proinflammatoires par l'administration quotidienne de pentoxifylline pourrait remédier les symptômes comportementaux dépressifs dans notre modèle animal.

Cette étude est prête à être soumise pour publication dans la revue *Behavioral Pharmacology*.

Thierno Madjou Bah est l'auteur principal de cette étude.

Pentoxifylline Exerts an Antidepressant-like Effect Following Acute Myocardial Infarction in the Rat

Bah T.M.^{1,3}, M.Sc.; Kaloustian S.^{1,2}, Ph.D.; Godbout R.^{1,3,*}, Ph.D.; Rousseau G.^{1,2}, Ph.D.

¹Centre de biomédecine, Hôpital Sacré-Cœur de Montréal; ²Département de pharmacologie, Université de Montréal; ³Département de psychiatrie, Université de Montréal

number of words in the abstract: 204
number of words in the text: 2787
number of tables: 0
number of figures: 3
number of pictures: 0
number of supplementary material : 0

Running title: Antidepressant-like effects of Pentoxifylline in MI Rats

*Address for correspondence:

Roger Godbout, Ph.D.
Centre de biomédecine
Hôpital du Sacré-Cœur
5400, boul. Gouin Ouest
Montréal (Québec) Canada H4J 1C5
Phone: (514) 338-2222, ext. 2460
Fax: (514) 338-2694

Abstract

Introduction: We have observed that after myocardial infarction (MI), rats present apoptosis in the limbic system that can be prevented with pentoxifylline (PTX), a pro-inflammatory cytokine inhibitor. We have hypothesized that the reduction of apoptosis in the limbic system can also attenuate the depressive behavior observed following MI. The present study was thus designed to determine the effect of PTX on post-MI depressive behavior.

Methods: Myocardial ischemia was induced for 40 minutes in male Sprague-Dawley rats followed by reperfusion (MI groups). Sham groups were subjected to the same protocol without any occlusion. Fifteen minutes before the ischemia, PTX (10 mg/kg/day) or saline was administered intraperitoneally. Rats were then treated every day until the sacrifice. Two weeks after ischemia, depression was evaluated by Forced swim test and by sucrose preference test. At the end of the experiment, animals were sacrificed and myocardial infarct size was evaluated as well as the plasmatic concentrations of IL-1 β .

Results: Our data indicate that for a similar MI size, MI rats drink less sucrose and present more immobility in the forced swim test as compared to the Sham groups. PTX reverses these behaviors in the MI group to a level similar to Sham group. PTX reduces the plasmatic concentrations of IL-1 β in sham and MI groups.

Conclusion: Administration of PTX reverses significantly the depressive behavior observed after MI in rats.

Keywords: Pentoxifylline; myocardial infarction; depression; cytokines; rat.

Introduction

Moderate depression can occur in 30-60% of myocardial infarcted patients and 15-20% develop major depression (1, 2) after myocardial infarction (MI). Evidence for a poor prognosis is particularly strong in patients with depressive symptoms (3-8): the risk of cardiac death in the six months after acute MI is approximately four times greater in patients with depression compared to non-depressed control subjects (7). The risk (3.5-fold) is still elevated five years after MI (6).

It has been proposed recently that apoptosis may be related to post-MI depressive behavior (9, 10). Our previous data indicated that apoptosis is observed in the limbic system, mainly the hippocampus and the amygdala, following myocardial infarction (11). Apoptosis appears during the first minutes of reperfusion in the hippocampus and after 24 hours in the amygdala, indicating the vulnerability of these structures. Intrinsic and extrinsic mechanisms of apoptosis have been both involved in apoptosis. Activation of the intrinsic mechanism can occur by the reduction of the cerebral blood flow induced by the myocardial ischemia whereas the extrinsic activation may occur through the production of the pro-inflammatory cytokines (12). Modulation of the intrinsic pathway can be difficult to reach without affecting myocardial damage but the attenuation of the extrinsic pathway activation can be obtained with inhibitor of cytokine synthesis (12). However, we ignore if the modulation of the extrinsic activation is sufficient to attenuate the depressive behavior observed after MI.

Pentoxifylline (PTX), a methylxanthine derivative nonspecific phosphodiesterase inhibitor, with combined anti-inflammatory and antifibrogenic properties (13, 14) can reduce the level of circulating pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) (15) through a cyclic adenosine monophosphate (cAMP)-dependent mechanism. We previously observed that the administration of PTX is associated with a reduction of the apoptosis in the limbic system after MI. Therefore; the present study was designed to evaluate the effect of pentoxifylline on post-MI depressive behavior.

Methods

Animals

Animals were acquired through regular purchases (Charles Rivers, St-Constant, Quebec, Canada) and housed individually under standard conditions of light/dark cycles: 12/12 h with light onset at 8:00 AM, temperature: 21-25°C, relative humidity: 40-50%, food and water: *ad libitum*. All procedures described below were conducted according to Canadian Council on Animal Care guidelines and were approved by the animal ethics committee of the Research Centre where the experiments were performed.

Surgical procedures

Fifty rats were randomly divided into four groups to receive either saline or Pentoxifylline intraperitoneally: Sham + saline, Sham + PTX, MI + saline and MI + PTX (twenty-four Sham and twenty-six MI). Rats were first anesthetized with ketamine/xylazine (50 mg/kg and 5 mg/kg, i.m. respectively). They were then intubated and connected to a ventilator to monitor respiration and then maintained on Isoflurane (1-1.5%) ventilation. Electrocardiogram, temperature, heart rate and oxygen flow were recorded throughout. Fifteen minutes prior the artery occlusion, the first injection of saline (0.9%) or PTX (10 mg/kg/day) was given intraperitoneally. A left thoracotomy was performed, and the left anterior descending coronary artery was occluded by a 4.0 silk suture with a plastic snare in twenty-six rats for 40 minutes. Ischemia was confirmed by ST segment alterations and ventricular subepicardial cyanosis. At the end of 40 minutes of occlusion (ischemia), the ligature was loosened and the myocardium was reperfused for three weeks. Reperfusion was confirmed by the disappearance of cyanosis. Twenty-four Control rats underwent the same surgical procedure, without occlusion. Finally, the ribs were sewn and the thorax was closed. The animals were then returned to their cages after receiving an antibiotic (15,000 IU Penicillin G, i.m.) and an analgesic (2 mg/kg of Butorphanol, s.c.) injections.

The analgesic was given every eight hour during the 24 first hours following the surgery.

Measurements of area at risk and infarct size

The infarct size was determined according to a standard method described by Wann et al. (16) Briefly, at the end of the experiment, rats were sacrificed by decapitation and the hearts were promptly removed. The blood was washed away with saline (0.9%) by cannulation of the aorta. Then the left anterior descending coronary artery was occluded at the same site as the prior occlusion had been made using a 4.0 silk suture. Evans Blue (0.5%) was infused into the aorta in order to determine the area at risk (AR). The heart were frozen at -80°C for five minutes and then sliced in four coronal sections of two mm. Each section was stained at 37°C for five minutes in a 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solution (TTC 1%, pH 7.4) to determine the area of necrosis (I). Myocardial infarction was expressed as a percentage of necrosis of the AR (I/AR). Moreover, AR was expressed as a percentage of left ventricle (LV) area (AR/LV). In terms of appearance, assessment of each area was achieved through morphological properties intensified with TTC treatment. For instance, the area of necrosis appears white, whereas the area at risk appears red. Evans Blue also identifies the area spared from ischemia, which is represented in blue.

Behavioral measures

The tests used were selected for their validity with regards to behavioral depression syndrome. All tests were conducted individually, in the morning between 8:30 AM to 11:30 AM, starting two weeks following MI.

Forced Swimming Test

Forced swim test was originally described by Porsolt and colleagues in 1978. It is a measure of behavioral despair or depression (17). Two weeks after myocardial infarction rats were individually forced to swim inside in a clear plastic cylindrical pool (45 cm tall × 25 cm diameter) filled with 30 cm of water maintained at 22–25°C. Rats were tested for two consecutive days: 15 minutes on day 14th and 5 minutes on day 15th. The following dependant variables (duration in minutes): swimming, trying to escape and being immobile were recorded with the help of stop-watch on day 15th and analyzed for behavioral despair. A rat was considered immobile when floating and making only the necessary movements to keep its nostrils above the water surface (18).

Sucrose Preference Test

This test was performed to access anhedonia and decreased sucrose intake is a measure of anhedonia state (19, 20). The next day following forced swim test, the sucrose preference test was performed. Rats had free access to two drinking bottles for five consecutive days: one containing tap water and the other containing a 1% sucrose solution. The position of the bottles was alternated each day. Liquid intake (consumption of water and sucrose solution) was measured each morning, at light onset by weighing bottles. The preference for sucrose was calculated from the amount sucrose solution consumed, expressed as a percentage of the total amount of liquid intake.

General conditions of animals after MI

During the recovering period (i.e. two weeks following the MI), the rats were recovered completely from the surgery. From the beginning of the study to the end, the general conditions and the well being of animals were similar and indicated no sign of pain or heart failure symptoms as reported in our previous studies (21, 22).

Plasmatic concentration of IL-1 β

IL-1 β levels were determined by using enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) using specific commercial kits from R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN, USA) according to the manufacturers' specifications.

Statistical analyses

The results are expressed as mean \pm standard error of the mean. MI size is evaluated by a Student "t" test. Results obtained in the behavioral test and IL-1 β circulating levels are evaluated by a 2X2 analysis of variance (MI and treatment). $p < 0.05$ was considered as significant.

Results

Infarct size

After sacrifice, we found that infarct size was similar between groups and represented $40.2 \pm 3.6\%$ of the area at risk in the MI group and $38.3 \pm 3.8\%$ for the MI+PTX group (Figure 1). The area at risk between MI and MI+PTX groups was similar and represents 65% of the left ventricle. No cardiac tissue damage was observed in the sham-operated controls rats.

Behavioral measures

Forced swimming test

In the forced swim test we observe a significant interaction between MI and treatment for the duration of immobility [$F(1,46) = 10.93$; $p < 0.05$] and swimming [$F(1,46) = 5.27$; $p < 0.05$]; (Figure 2); simple effects of the interaction indicate that pentoxifylline has no effect

on immobility and swim time in sham rats while it decreased immobility [$F(1,47) = 24,93$; $p < 0.05$] and increased swim time [$F(1,47) = 16.57$; $p < 0.05$] in MI rats. No difference was observed for the escape results among groups.

Sucrose preference test

Results indicate significant interaction between MI and treatment for the percent of sucrose intake by the animals [$F(1,21) = 7,61$; $p < 0.05$]; simple effects of the interaction indicate that pentoxifylline increases sucrose intake in the MI group [$F(1,22) = 5,37$; $p < 0.05$] whereas no effect of pentoxifylline was observed in the sham group. Total liquid was similar between groups (Figure 3).

Plasmatic concentration of IL-1 β

We found a significant decrease in plasmatic levels concentrations of IL-1 β in presence of pentoxifylline [$F(1,22) = 6,82$; $p < 0.05$]; No other effect was observed (Figure 4).

Discussion

This study shows that in spite of absence of significant effect on infarct size, PTX given 15 minutes before the ischemia attenuates the depressive behavior evaluated by two different tests. Absence of effect of PTX on infarct size in the present study confirms previous results (16) and suggests that pro-inflammatory cytokines play a limited role in infarct size in our model. However, some authors suggest that the presence of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α is important to induce preconditioning (23, 24). In homozygous TNF- α null mice, brief periods of ischemia before the sustained ischemia (early-preconditioning) are unable to induce a reduction in infarct size as compared to the wild-type mice (23). In another study, the presence of soluble-TNF-receptor abolished the beneficial effect of the preconditioning (24). Interestingly, it has been observed that the administration of the TNF- α induces protection in an inversed bell shape manner where

protection is lost with higher dosages. However, the role of TNF- α in preconditioning has been challenged in other study (25). The role of other pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β or IL-6 in myocardial infarction is understudied and remains speculative at this moment.

Symptoms of depression were evaluated by the Forced Swim Test and the Sucrose Preference Test. The prolonged immobility time in the forced swimming test symptomatic of decreased motivation and behavioural despair (26). The reduced preference for sweet sucrose solution is a putative indicator of anhedonia in rodents and it has been proposed that reduced sensitivity to rewards in rodents might be homologous to human anhedonia (27, 28). In the forced swim test, we observed that MI provokes an increase in the immobility and a decrease in the swimming time as compared to Sham groups. One could argue that the increase in immobility is due to infarct size and the physical condition of rats. However, since infarct size is similar between MI and MI-PTX groups, we believe that the infarct size is not an issue to explain the differences between MI groups.

It also have been reported that the forced swim test is a highly specific test to detect antidepressant drugs (29, 30). PTX shortened the immobility time, indicating an antidepressant role of this drug in our model and the potential role of pro-inflammatory cytokines in the depressive behavior following myocardial infarction. Results obtained in the sucrose preference test, which evaluate behavior that is similar to human anhedonia (31, 32), also indicate that MI induces anhedonia and this condition can be reversed by PTX and compatible with our previous study (16, 33).

We have previously observed that PTX attenuates apoptosis in the limbic system (16). Interestingly, it has been proposed that apoptosis may be related to depressive behavior. For example, post-mortem brains of depressed patients show DNA fragmentation and neuronal apoptosis, suggesting enhanced neuronal vulnerability in depression (9). Neuronal loss and reduced neurogenesis have also been observed in animal models of mood disorders (9, 34, 35). One study reported that cell death was observed in the

entorhinal cortex, subiculum, dentate gyrus and hippocampus (CA1 and CA4) in 11 out of 15 depressed patients without obvious massive cell loss (36). It has been proposed that an imbalance between neurogenesis and cell death may contribute to some extent to the brain volume changes in depression or, alternatively, it may contribute, in a time-limited manner, followed by regeneration (37). In a more recent study, it was suggested that the contribution of cell death may be underestimated, since in addition to be transient, apoptosis can be attenuated with antidepressant treatments (38). Other evidence, however, indicates that the lymphocytes (39) or blood leukocytes (40) of depressed patients manifest a higher proportion of apoptotic cells compared to healthy controls. In addition, proapoptotic serum activity is elevated in depressed patients (41), further supporting a link between apoptosis and depression. However other data must be obtained to establish a clear link between those events.

Our previous work indicates that intrinsic and extrinsic mechanisms of apoptosis are activated in the limbic system following MI (12). Activation of the intrinsic pathway, which can be activated by the reduced blood flow observed in the limbic system after MI, is observed in the CA1 region of the hippocampus (12). In the other side, activation of the extrinsic pathway, which can be activated by pro-inflammatory cytokines, is rapidly observed in the dentate gyrus region (12) after the onset of reperfusion. Later during reperfusion, amygdala presents also signs of apoptosis with activation of the extrinsic pathway (11). According to the present study, activation of the extrinsic pathway is probably more important to induce depressive behavior since in spite of similar infarct size, depressive behavior is attenuated in the MI-PTX group as compared to the MI group. We hypothesize if PTX reduce IL-1 β in both groups; it might be possible that PTX has no effect on the symptoms of depression because it has no effect on Sham rats. However, perhaps it seems that PTX may have a floor effect via its interaction with other proinflammatory cytokines or via its interaction with the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Recently Kang et al. (42) reported that the proinflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β accumulate in the hypothalamus. Circulating cytokines have well-recognized

effects on the brain, mediated by induction of cyclooxygenase-2 (COX-2) activity in the cerebral microvasculature (43, 44) and the prostaglandin E2 (PGE₂), a principal product of COX-2, activates the HPA axis (43).

The therapeutic effect of PTX resides in part by the inhibition of phosphodiesterases, increased intracellular cAMP levels and downregulation of proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6) (15). Among these effects, it seems probable that PTX may attenuate the depressive behavior by altering pro-inflammatory cytokine levels. Indeed, it has been reported that pro-inflammatory cytokines can induce depressive like behavior and apoptosis. For example, injection of IL-1 β increases hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) activity (45, 46) and induced depressive-like behavior (47-49), circulating concentrations are elevated in depressive patients and IL-1 receptor antagonist can attenuate the effects of IL-1 β . Similarly, deletion of the TNFR1 or TNFR2 in mice leads to an antidepressant like response in the forced swim test (50) and rheumatoid arthritis patients treated with anti-TNF- α present less mood and anxiety disorders as compared to untreated patients (51). Interestingly, we have demonstrated that PEG-sTNFR1 can attenuate the apoptosis observed in the limbic system after MI (12). These data pointed toward an effect of PTX on reducing pro-inflammatory cytokines to explain the antidepressant effect observed in our model.

However, other mechanisms can be evolved such as the PTX on phosphodiesterase. Inhibition of phosphodiesterase will induce an increase in cAMP levels that are similar to what we can observe with antidepressant (52). This elevation may lead to an increase in CREB activity element-binding (CREB) protein, a transcription factor that mediates increases in the expression of brain-derived neurotrophic factor, necessary for the survival and function of neurons (53). However, we have previously reported that the level of BDNF is minimally related to the apoptosis observed in the first days after MI (12), suggesting that this mechanism is probably less important in our model.

Limitation

One limitation of the present study is the timing of administration of the PTX. Indeed, it would be difficult to give PTX before the ischemia in a clinical setting. However, we decide to use the same protocol as previously to determine if in addition to the reduction of apoptosis (16), PTX can attenuate the depressive behavior observed in our post-MI model. Another limitation is the fact that PTX is not exclusively a "cytokine synthesis inhibitor" and other mechanisms can be involved to explain the anti-depressant like effect.

Conclusion

We have observed that the administration of PTX before the ischemic period attenuates the post-MI depressive behavior. This is the first evidence that a non-antidepressant may reduce the depressive behavior in our experimental model.

Acknowledgements

We are grateful to Pierre Fortier, Louis Chiochio and Caroline Bouchard for their technical assistance. T.M. Bah is a recipient of FRSQ scholarships. This work was supported by grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) to R. Godbout (#155211) and G. Rousseau (#250234). Pentoxifylline was graciously provided by Pfizer.

Figures and Legends

Figure 1: The myocardial infarct size (I) expressed as a percentage of the area at risk (AR) or left ventricle (LV) shows no difference between groups. The area at risk (AR) expressed as a percentage of the left ventricle (LV) is similar between groups (n = 8-9 per group).

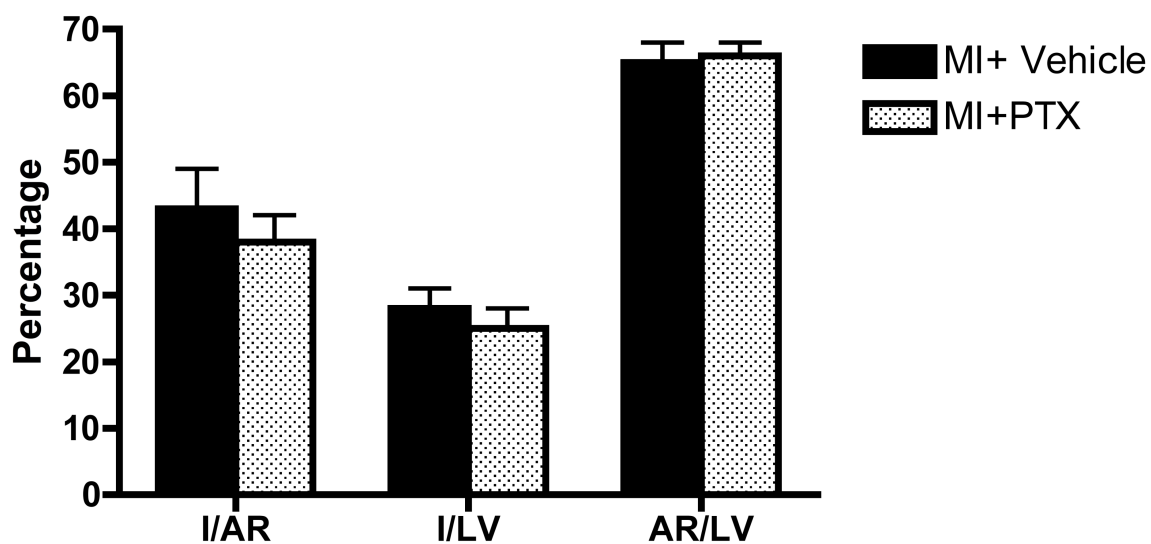


Figure 2: This figure illustrates the performance of the rats in the Forced swim test for the 4 different groups. Escape time was similar between groups whereas MI rats show more immobility and less Swimming than the other groups (n = 11-12 per group, *p < 0.05).

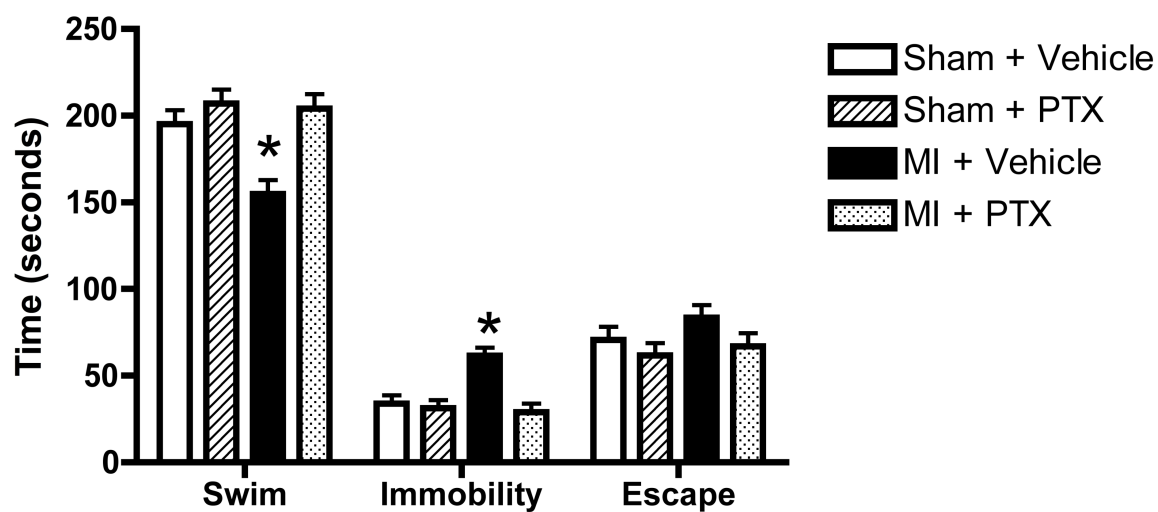


Figure 3: Up: Percent of water intake on 5 days in the Sucrose Preference Test ($n = 6-7$ per group. $*p < 0.05$). Down: Total liquid intake in 5 days for the different groups. No significant difference was observed.

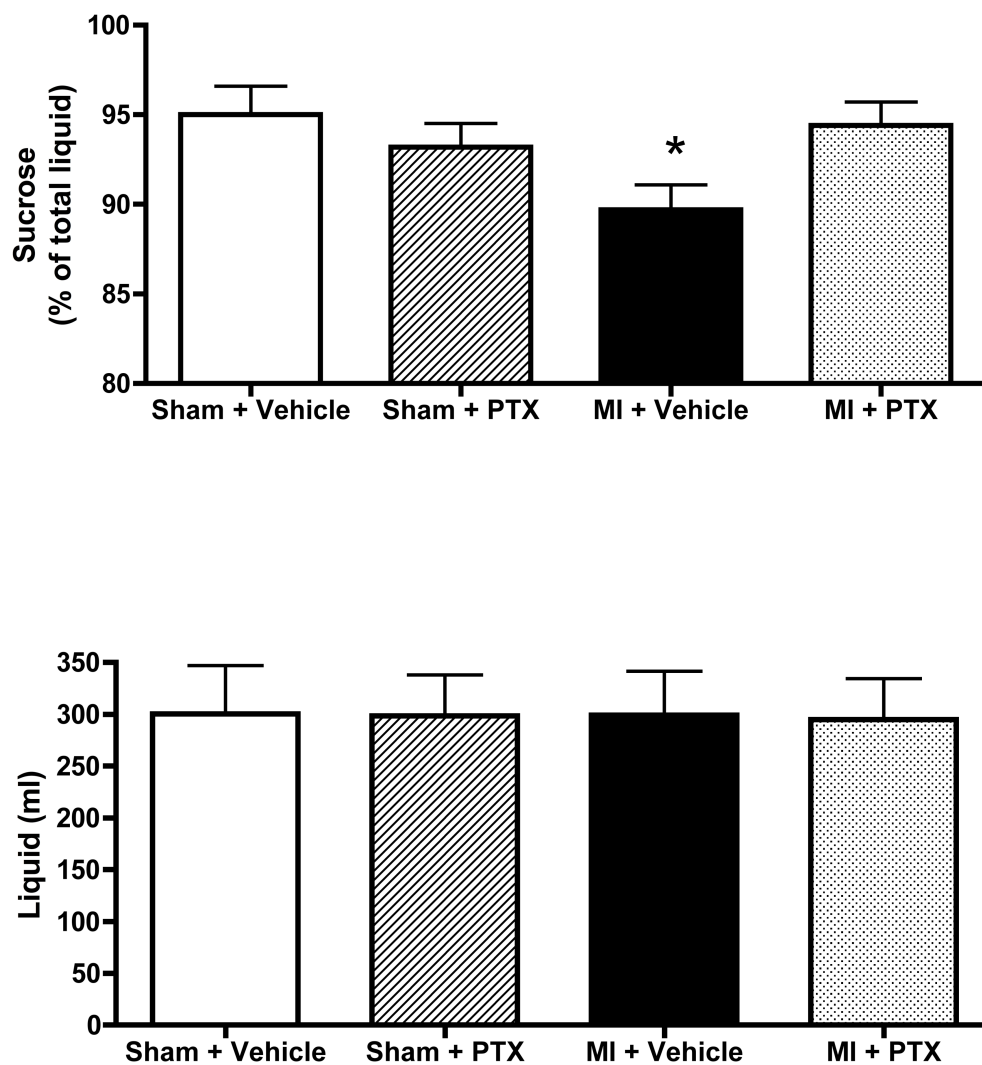
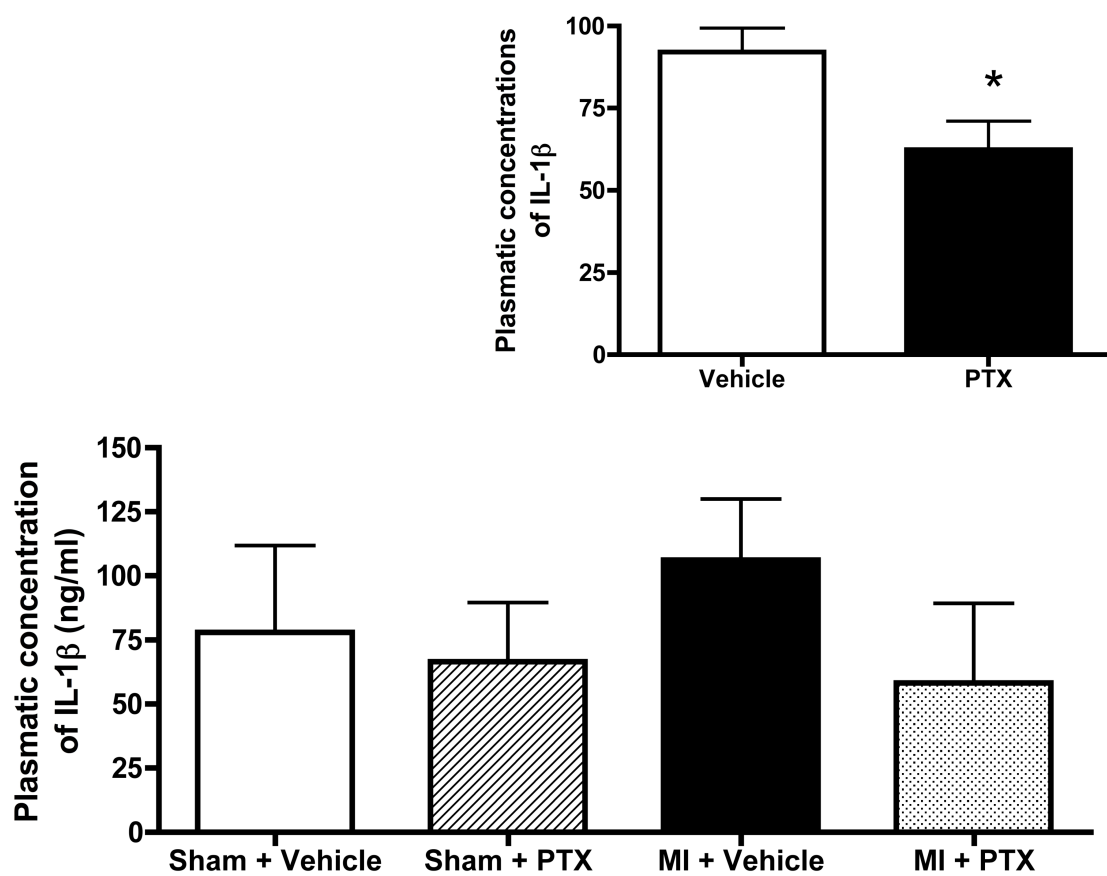


Figure 4: Up: Main effect of Treatment on plasmatic concentrations of IL-1 β . Down: Circulating concentration of IL-1 β in the different groups (n = 8-9 per group. *p < 0.05).



References

1. Guck, T.P., et al., Assessment and treatment of depression following myocardial infarction. *Am Fam Physician*, 2001. 64(4): p. 641-8.
2. Meneses, R., et al., Depression in patients with myocardial infarction. *Rev Port Cardiol*, 2007. 26(11): p. 1143-65.
3. Bush, D.E., et al., Even minimal symptoms of depression increase mortality risk after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 2001. 88(4): p. 337-41.
4. Ahern, D.K., et al., Biobehavioral variables and mortality or cardiac arrest in the Cardiac Arrhythmia Pilot Study (CAPS). *Am J Cardiol*, 1990. 66(1): p. 59-62.
5. Forrester, A.W., et al., Depression following myocardial infarction. *Int J Psychiatry Med*, 1992. 22(1): p. 33-46.
6. Lesperance, F., et al., Five-year risk of cardiac mortality in relation to initial severity and one-year changes in depression symptoms after myocardial infarction. *Circulation*, 2002. 105(9): p. 1049-53.
7. Frasure-Smith, N., F. Lesperance, and M. Talajic, Depression following myocardial infarction. Impact on 6-month survival. *JAMA*, 1993. 270(15): p. 1819-25.
8. Frasure-Smith, N., F. Lesperance, and M. Talajic, The impact of negative emotions on prognosis following myocardial infarction: is it more than depression? *Health Psychol*, 1995. 14(5): p. 388-98.
9. Lucassen, P.J., et al., Stress, depression and hippocampal apoptosis. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2006. 5(5): p. 531-46.
10. Wann, B.P., et al., Vulnerability for apoptosis in the limbic system after myocardial infarction in rats: a possible model for human postinfarct major depression. *J Psychiatry Neurosci*, 2007. 32(1): p. 11-6.

11. Kaloustian, S., et al., Apoptosis time course in the limbic system after myocardial infarction in the rat. *Brain Res*, 2008. 1216: p. 87-91.
12. Kaloustian, S., et al., Tumor necrosis factor-alpha participates in apoptosis in the limbic system after myocardial infarction. *Apoptosis*, 2009. 14(11): p. 1308-16.
13. Danjo, W., N. Fujimura, and Y. Ujike, Effect of pentoxifylline on diaphragmatic contractility in septic rats. *Acta Med Okayama*, 2008. 62(2): p. 101-7.
14. Gutierrez-Reyes, G., et al., Effect of pentoxifylline on levels of pro-inflammatory cytokines during chronic hepatitis C. *Scand J Immunol*, 2006. 63(6): p. 461-7.
15. Raetsch, C., et al., Pentoxifylline downregulates profibrogenic cytokines and procollagen I expression in rat secondary biliary fibrosis. *Gut*, 2002. 50(2): p. 241-7.
16. Wann, B.P., et al., Apoptosis detected in the amygdala following myocardial infarction in the rat. *Biol Psychiatry*, 2006. 59(5): p. 430-3.
17. West, A.P., Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1990. 14(6): p. 863-77.
18. Rygula, R., et al., Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behav Brain Res*, 2005. 162(1): p. 127-34.
19. Redei, E.E., et al., Novel animal models of affective disorders. *Semin. Clin. Neuropsychiat*, 2001. 6: p. 43-67.
20. Willner, P., et al., Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 1987. 93: p. 358-364.

21. Bah, T.M., et al., Escitalopram reduces circulating proinflammatory cytokines and improves depressive behavior without affecting sleep in a rat model of post cardiac infarct depression. *Biological Psychiatry*, 2010. Submitted (BPS-S-10-02431).
22. Bah, T.M., et al., Paradoxical sleep insomnia and decreased cholinergic neurons after myocardial infarction in the rats. *Sleep*, 2010. 33(12): p. 1703-10.
23. Dawn, B., et al., Tumor necrosis factor-alpha does not modulate ischemia/reperfusion injury in naive myocardium but is essential for the development of late preconditioning. *J Mol Cell Cardiol*, 2004. 37(1): p. 51-61.
24. Deuchar, G.A., L.H. Opie, and S. Lecour, TNFalpha is required to confer protection in an in vivo model of classical ischaemic preconditioning. *Life Sci*, 2007. 80(18): p. 1686-91.
25. Belosjorow, S., et al., TNF-a antibodies are as effective as ischemic preconditioning in reducing infarct size in rabbits. *Am. J. Physiol.*, 2003. 284: p. H927-H930.
26. Porsolt, R.D., Animal model of depression. *Biomedicine*, 1979. 30(3): p. 139-40.
27. Moreau, J.L., [Validation of an animal model of anhedonia, a major symptom of depression]. *Encephale*, 1997. 23(4): p. 280-9.
28. Willner, P., R. Muscat, and M. Papp, Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*, 1992. 16(4): p. 525-34.
29. Lucki, I., The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav Pharmacol*, 1997. 8(6-7): p. 523-32.

30. Porsolt, R.D., et al., Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*, 1978. 47(4): p. 379-91.
31. Papp, M., P. Willner, and R. Muscat, An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacology (Berl)*, 1991. 104(2): p. 255-9.
32. Rygula, R., et al., Citalopram counteracts depressive-like symptoms evoked by chronic social stress in rats. *Behav Pharmacol*, 2006. 17(1): p. 19-29.
33. Wann, B.P., et al., Behavioural signs of depression and apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: effects of sertraline. *J Psychopharmacol*, 2009. 23(4): p. 451-9.
34. Czeh, B., et al., Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(22): p. 12796-801.
35. Gould, E. and P. Tanapat, Stress and hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry*, 1999. 46(11): p. 1472-9.
36. Lucassen, P.J., et al., Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *Am. J. Pathol.*, 2001. 158: p. 453-468.
37. Malberg, J.E., et al., Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J. Neuroscience*, 2000. 20: p. 9104-9110.
38. Lucassen, P.J., E. Fuchs, and B. Czéh, Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol. Psych.*, 2004. 55: p. 789-796.

39. Ivanova, S.A., et al., Signs of apoptosis of immunocompetent cells in patients with depression. *Neurosci Behav Physiol*, 2007. 37(5): p. 527-30.
40. Szuster-Ciesielska, A., et al., Accelerated apoptosis of blood leukocytes and oxidative stress in blood of patients with major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2008. 32(3): p. 686-94.
41. Politi, P., N. Brondino, and E. Emanuele, Increased proapoptotic serum activity in patients with chronic mood disorders. *Arch Med Res*, 2008. 39(2): p. 242-5.
42. Kang, Y.M., et al., Novel effect of mineralocorticoid receptor antagonism to reduce proinflammatory cytokines and hypothalamic activation in rats with ischemia-induced heart failure. *Circ Res*, 2006. 99(7): p. 758-66.
43. Ericsson, A., C. Arias, and P.E. Sawchenko, Evidence for an intramedullary prostaglandin-dependent mechanism in the activation of stress-related neuroendocrine circuitry by intravenous interleukin-1. *J Neurosci*, 1997. 17(18): p. 7166-79.
44. Rivest, S., et al., How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc Soc Exp Biol Med*, 2000. 223(1): p. 22-38.
45. Raison, C.L., L. Capuron, and A.H. Miller, Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*, 2006. 27(1): p. 24-31.
46. Anisman, H. and Z. Merali, Anhedonic and anxiogenic effects of cytokine exposure. *Adv Exp Med Biol*, 1999. 461: p. 199-233.
47. Bonaccorso, S., et al., Behavioral changes in rats after acute, chronic and repeated administration of interleukin-1 beta: relevance for affective disorders. *J. Aff. Disor.*, 2003. 77: p. 143-148.

48. Koo, J.W. and R.S. Duman, IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. 105(2): p. 751-6.
49. Lacosta, S., Z. Merali, and H. Anisman, Influence of interleukin-1 β on exploratory behaviors, plasma ACTH, corticosterone, and central biogenic amines in mice. *Psychopharmacology*, 1998. 137: p. 351-361.
50. Simen, B.B., et al., TNF α signaling in depression and anxiety: behavioral consequences of individual receptor targeting. *Biol Psychiatry*, 2006. 59(9): p. 775-85.
51. Uguz, F., et al., Anti-tumor necrosis factor- α therapy is associated with less frequent mood and anxiety disorders in patients with rheumatoid arthritis. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2009. 63(1): p. 50-5.
52. Li, Y.F., et al., Antidepressant- and anxiolytic-like effects of the phosphodiesterase-4 inhibitor rolipram on behavior depend on cyclic AMP response element binding protein-mediated neurogenesis in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, 2009. 34(11): p. 2404-19.
53. Tapia-Arancibia, L., et al., Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Front Neuroendocrinol*, 2004. 25(2): p. 77-107.

Préface de la discussion générale

Les résultats présentés dans les trois articles ont été discutés en détail dans chacun des manuscrits. Le but de cette section est de résumer la signification physiopathologique de ces résultats, leur implication dans le syndrome comportemental dépressif post-infarctus et de discuter des études futures qui permettront d'apporter une meilleure compréhension des questions relatives à cette thèse.

Discussion

Plusieurs études ont montré que la perturbation des fonctions du système cardiovasculaire constitue un risque majeur de développement du trouble dépressif chez l'homme (Jiang et coll., 2002; Rudisch et Nemeroff, 2003). De plus, suite à un IM, 15-30% de la population développe la dépression majeure (Guck et coll., 2001) dans les 6 à 8 mois suivant cet événement cardiaque (Frasure-Smith et coll., 1993) suggérant un lien entre les maladies cardiovasculaires et la dépression. Nous avons développé et reproduit ce syndrome chez un modèle animal (le rat) mimant la physiopathologie de la dépression post-infarctus du myocarde (Wann et coll., 2007, 2009). Les travaux antérieurs effectués sur ce modèle ont permis de le caractériser sur les sphères comportementale, biochimique et pharmacologique (Wann et coll., 2006, 2007, 2009; Kaloustian et coll., 2007, 2008, 2009; Lada-Moldovan et coll., 2009, Bah et coll., 2010). Ce modèle animal présente une anhédonie, de la détresse comportementale et de la mort cellulaire par apoptose dans le système limbique (Wann et coll., 2006, 2009). Ces perturbations comportementales et biochimiques ont pu être prévenues par l'administration d'antidépresseurs comme la désipramine et la sertraline (Wann et coll., 2007, 2009) suggérant un lien de cause à effet entre le cœur et le cerveau. Nous nous sommes donc intéressés à ce lien causal et avons suspecté entre autres les cytokines proinflammatoires d'être des facteurs déterminants dans la communication bidirectionnelle cœur-cerveau. Ainsi, comme mentionné plus haut dans cette thèse, l'IM provoque non seulement une dépression majeure chez les patients à risque de maladies cardiovasculaires, mais aussi ces patients déprimés présentent une perturbation de l'architecture du sommeil.

Puisque le sommeil est un état physiologique complexe et dynamique qui est nécessaire à la vie et que l'architecture du sommeil constitue l'organisation structurale du sommeil, nous avons voulu en apprendre davantage en poursuivant la caractérisation du modèle dans les différentes sphères évoquées plus haut en étudiant l'architecture du sommeil, les cytokines et l'effet de quelques traitements pharmacologiques pour prévenir

ou remédier les symptômes observés aussi bien dans les études précédentes que celles faisant l'objet de cette présente thèse. Pour maintenir le sommeil et l'éveil, il est important que les mécanismes responsables de l'éveil et du sommeil fonctionnent adéquatement. De plus, plusieurs facteurs comme les maladies chroniques (obésité, diabète, hypertension, maladies cardiovasculaires) peuvent négativement influencer ces mécanismes et réduire la quantité et la qualité du sommeil (Schiza et coll., 2010). Ces maladies chroniques sont souvent concomitantes (ou associées) à la dépression. Or, il est connu d'une part que la dépression est caractérisée par une série de troubles du sommeil (difficultés d'initiation et de maintien du sommeil) rapportés par les patients hospitalisés ou en consultation avec une dépression majeure (Mendlewicz, 2009; Abad et Guilleminault, 2005) et chez les modèles animaux de dépression (Song et Leonnard, 2005; Willner, 2005; Adrien et coll., 1991; Vogel et coll., 1990; Overstreet et coll., 2005). D'autre part, les cytokines sont à la fois impliquées dans l'IM (Frangogiannis et coll., 2002), la dépression (Maes, 1995; Schiepers et coll., 2005) et dans la régulation du sommeil (Krueger et coll., 1995; Opp, 2005), ce qui leur confère une place au cœur de la problématique de la dépression post-infarctus du myocarde. Dans la tentative de compréhension de la physiopathologie de la dépression post-infarctus, la présente thèse de doctorat a donné naissance à trois grandes études dont les résultats ont été discutés en détail dans les trois articles inclus dans cette thèse.

Notre première étude intitulée "*Paradoxical Sleep Insomnia and Decreased Cholinergic Neurons After Myocardial Infarction in Rats*" nous a permis de caractériser l'architecture du sommeil deux semaines après à un infarctus aigu du myocarde chez le rat.

Les résultats de l'analyse de la macrostructure du sommeil ont montré que les rats ayant subi un IM présentaient une perturbation de l'architecture du sommeil. Comparés au groupe témoin, les rats IM ont montré une latence au sommeil deux fois plus élevée, un raccourcissement de la latence au SP deux fois plus courte, une diminution du temps passé en SP et du nombre des épisodes de SP, un SP moins fractionné, mais plus court. Ce qui suggère que les rats IM présentent non seulement une insomnie d'initiation du sommeil,

mais également une insomnie spécifique au SP. Les résultats de notre étude concordent avec celle de BaHammam (2006) et celle de Broughton et Baron (1978) qui rapportent des troubles du sommeil immédiatement après un IM sévère chez les patients ainsi qu'une réduction du SP et une diminution du nombre de périodes REM établissant une relation entre l'infarctus aigu du myocarde et le sommeil.

Contrairement à ce qui était attendu, notre modèle présentait une réduction de la durée du SP. L'examen approfondi de l'origine de cette réduction effectuée par la quantification des neurones cholinergiques du tronc cérébral par immunohistochimie a montré un nombre significativement réduit de neurones cholinergiques dans le noyau du PPT mais pas dans le LDT chez les animaux IM comparativement aux animaux témoins (Bah et coll., 2010). Ces résultats sont cependant contraires à l'étude de Greco et collaborateurs (1998) dans laquelle le nombre de neurones cholinergiques dans le PPT et le LDT était similaire chez les rats FSL (*Flinders sensitive line*), les rats FRL (*Flinders resistant line*) et la souche de rats Sprague-Dawley. Cette différence pourrait s'expliquer dans notre cas par le fait que les modèles animaux sont différents (modèle génétique vs modèle chirurgical), d'où l'augmentation de la quantité du sommeil paradoxal vs une réduction. Toutefois, un des mécanismes possibles dans la compréhension de ce phénomène serait l'influence des cytokines proinflammatoires connues pour leur implication dans la régulation du sommeil (Krueger et coll., 1995; Opp, 2005). En fonction de la cytokine spécifique, la dose, ou le moment de son administration (Mills et Dimsdale, 2004; Opp, 2002), ces cytokines sont connues dans la promotion ou l'inhibition du SP (Kapsimalis et coll., 2005). L'autre mécanisme possible pourrait être la mort cellulaire par apoptose qui se produisait dans le système limbique en particulier dans l'amygdale 72 heures suivant l'IM chez le rat (Wann et coll., 2006). Il est connu que l'amygdale est impliquée dans la régulation des fonctions cardiovasculaires principalement par la modulation de l'activité neuronale y compris le système nerveux autonome parasympathique et l'arc réflexe des barorécepteurs (Ter Horst, 2000) ainsi que dans la modulation du sommeil REM (Sanford et coll., 2006). L'amygdale entretient également des

liens avec d'autres zones du cerveau, y compris l'hippocampe, le thalamus, le néocortex, le striatum et le cerveau antérieur basal et les régions du tronc cérébral (par exemple, le PPT; le LDT; le noyau du locus coeruleus; le subcoeruleus et le noyau du raphé dorsal) connus dans la régulation du sommeil (Krettek et Price, 1978; Rye et coll., 1987; Semba et Fibiger, 1992; Peyron et coll., 1998). Étant donné le rôle des neurones cholinergiques dans la génération du PS, l'acétylcholine est impliquée dans la génération du SP (Sakai et coll., 2001) et joue un rôle dans la régulation du sommeil et de l'éveil, en particulier du sommeil REM (Sanford et coll., 2006). En outre, il a été suggéré que des changements dans la quantité de SP soient associés au dysfonctionnement de l'activité de l'acétylcholine (Longordo et coll., 2009). Ceci pourrait s'expliquer d'une part, par l'apoptose survenant dans l'amygdale et qui se propagerait vers le tronc cérébral via les connexions réciproques entre ces structures. La mort des neurones cholinergiques serait alors induite par l'intermédiaire de la signalisation du TNF- α , cytokine proinflammatoire synthétisée et sécrétée dans le SNC par la microglie et les astrocytes. D'autre part, le TNF- α pourrait agir en conjonction avec l'interleukine-1 β dans la production des espèces réactives d'oxygène toxique provoquant la mort cellulaire. Zassler et coll. (2003) ont montré que le TNF- α seul pouvait endommager les fibres nerveuses cholinergiques, mais était insuffisant pour induire la mort cellulaire des neurones cholinergiques. Toutefois, une suractivation du cortex pourrait fournir un cofacteur essentiel aux cytokines proinflammatoires pour induire des lésions axonales et par la suite la mort cellulaire rétrograde des neurones cholinergiques. En conclusion, l'étude de Zassler et coll. (2003) montre que le TNF- α potentialisait la mort cellulaire des neurones cholinergiques possiblement via un dommage axonal rétrograde in vitro et in vivo.

Finalement, l'insomnie retrouvée chez les animaux IM pourrait aussi s'expliquer par la réduction du volume de l'hippocampe. Car de manière intéressante, il a été montré que la sévérité de l'insomnie subjective chez l'homme était associée à une perte de volume des sous-zones CA3/gyrus dentelé de l'hippocampe. La forte association de l'insomnie avec le volume des sous-zones CA3/gyrus dentelé est compatible avec les modèles animaux qui ont

montré que le trouble chronique du sommeil était associé à la diminution de la neurogenèse et du branchement dendritique dans ces mêmes structures (Neylan et coll., 2010). Ceci corrèle bien en partie avec nos études antérieures montrant une apoptose dans le gyrus dentelé de l'hippocampe et l'hypothalamus antérieur (Wann et coll., 2009).

En conclusion, l'IM est accompagné d'une insomnie spécifique au SP, possiblement due à la perte de neurones cholinergiques dans le PPT, structure qui serait plus sensible que le LDT suite aux dommages induits par l'IM. À l'état actuel de nos connaissances, c'est la première étude qui apporte une explication scientifique à la présence d'insomnie suite à un IM autre que par le stress.

Puisque nous avons depuis le début du projet de recherche suspecté les cytokines proinflammatoires d'être en partie responsables des perturbations biochimiques et comportementales observées, nous nous sommes donc intéressés à ces composantes du système immunitaire dans une deuxième étude intitulée "*Escitalopram reduces circulating proinflammatory cytokines and improves depressive behavior without affecting sleep in a rat model of post cardiac infarct depression*". Dans cette étude, en plus de reproduire les troubles du sommeil observés dans la première étude, nous avons évalué l'efficacité de l'administration d'un antidépresseur de la classe des ISRS à savoir l'escitalopram à la fois sur les troubles du sommeil et sur les symptômes de dépression (anhédonie et détresse comportementale). Ces ISRS sont impliquées dans la régulation du niveau des cytokines proinflammatoires (Bareggi et coll., 2007; Basterzi et coll., 2005; Hoschl et Svestka, 2008; Kapsimalis et coll., 2005; Kubera et coll., 2000; Maes, 2001), mais n'ont pas été testées chez les rats IM.

Les symptômes dépressifs ont été évalués par les tests de nage forcée comme indice de détresse comportementale (Porsolt et coll., 1978; Willner, 1984) et le test de la préférence au sucrose comme indice d'anhédonie (Willner et coll., 1987; Wann et coll., 2007; 2009).

Les résultats au test de nage forcé ont montré que les rats IM traités à la saline s'immobilisaient significativement plus longtemps et nageaient significativement moins longtemps que les rats traités avec l'escitalopram. Ce comportement passif pourrait être la résultante d'une déficience du système motivationnel caractéristique du trouble dépressif (Rygula et coll., 2005). Au test de la préférence au sucrose, les résultats ont montré que les rats IM traités à la saline consommaient significativement moins de sucrose que les rats traités avec l'escitalopram et concordent avec d'autres modèles animaux de dépression (Grippio et coll., 2006; Moreau, 1997; Willner, 1997; Rygula et coll., 2005; Overstreet, 1993). De plus, la présence de ce comportement anhédonique indiquerait une désensibilisation du mécanisme cérébral de la récompense (Rygula et coll., 2005). La réduction de la sensibilité à la récompense chez les rongeurs pourrait être homologuée à l'anhédonie qu'on retrouve chez l'humain (Moreau, 1997; Willner et coll., 1992). La détresse comportementale a pu être prévenue par l'escitalopram comme l'attestent d'autres études ayant utilisé d'autres antidépresseurs comme les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la noradrénaline (ISRN) et des ISRS (El Khoury et coll., 2006; Lopez-Rubalcava et Lucki, 2000; Piubelli et coll., 2010). Les ISRN comme la désipramine et la maproline augmentent le temps d'échappement sans altérer la nage; les ISRS comme la fluoxétine, la paroxétine et la sertraline augmentent le temps de nage sans affecter le temps d'échappement. Les antidépresseurs ayant des effets mixtes sur le transporteur de la sérotonine et de la noradrénaline sont capables d'augmenter ces patrons de comportements actifs (Detke et coll. 1995; Rénérice et Lucki, 1998). L'anhédonie a elle aussi été renversée par l'administration de l'escitalopram.

L'étude polysomnographique du sommeil a permis de répliquer nos résultats antérieurs (Bah et coll., 2010). Les résultats montrent que les rats IM comparativement aux rats témoins présentaient des signes de dyssomnie équivalents à ceux rencontrés d'une part dans la dépression humaine (Abad et Guilleminault, 2005; Benca, 1996) et d'autre part chez les modèles animaux de dépression (Song et Leonard, 2005; Willner, 2005; Overstreet et

coll., 2005; Adrien et coll., 1991; Vogel et coll., 1990), incluant l'insomnie. Toutefois, l'escitalopram aurait un effet limité sur l'amélioration des troubles du sommeil suggérant que les ISRS à eux seuls ne sauraient être suffisants dans le traitement des troubles du sommeil chez les patients déprimés après un IM.

Il a été démontré que les patients avec une dépression majeure présentaient des élévations du niveau des cytokines proinflammatoires (Connor et Leonard, 1998) et de leurs récepteurs solubles dans le sang et dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). De plus, ils présentaient également des élévations de concentrations dans le sang des protéines de phase aiguë, des chimiokines, des molécules d'adhésion, et des médiateurs inflammatoires tels que la PGE₂ (Raison et coll., 2006; Zorilla et coll., 2001; Maes, 1999a). Ces cytokines inflammatoires peuvent activer le système HHS entraînant la libération de glucocorticoïdes (Silverman et coll., 2005), qui à leur tour vont supprimer la production de cytokines pro-inflammatoires. Des études expérimentales ont montré qu'une stimulation immunitaire chez l'homme (Reichenberg et coll., 2001; Reichenberg et coll., 2002) ainsi que chez les rongeurs (Linthorst et Reul, 1999) induisait un comportement de maladie (Dantzer, 2001).

Sur le plan biochimique, nos résultats concordent avec celles rapportées dans la littérature montrant une augmentation significative des niveaux plasmatiques de l'IL-1 β et du TNF- α (Connor et Leonard, 1998), la PGE₂ (Calabresi et coll., 2003; Berger et coll., 1976) et la corticostérone (Nito et coll., 2004) circulants chez les patients dépressifs et après un IM. L'administration de l'escitalopram a permis de réduire ces niveaux à des concentrations comparables aux rats témoins. Toutefois, le niveau plasmatique de l'IL-6 était similaire chez tous les groupes et l'escitalopram n'avait aucun effet sur celui-ci. Le traitement du trouble dépressif avec les antidépresseurs n'est pas toujours accompagné d'une réduction des concentrations des cytokines pro-inflammatoires (Weizman et coll., 1994; Maes, 1995), mais associé à une diminution du ratio des cytokines pro-inflammatoires/anti-inflammatoires (Kubera et coll., 2001; Maes, 2001).

En conclusion, cette étude a montré que le syndrome dépressif post-IM est atténué par l'escitalopram par un mécanisme qui impliquerait la réduction des cytokines proinflammatoires et la PGE₂. Comme la sertraline utilisée dans nos études précédentes (Wann et coll., 2009), l'escitalopram n'a aucun effet sur la taille de l'infarctus. D'une part, il est connu que les ISRS agissent en empêchant la recapture de la sérotonine par les neurones présynaptiques et par les plaquettes. D'autre part, puisque les ISRS peuvent diminuer la quantité de sérotonine stockée par les plaquettes, moins de sérotonine est libérée lors de l'agrégation plaquettaire, et en tant que telle, les ISRS pourraient avoir des propriétés antithrombotiques qui peuvent avoir un effet cardioprotecteur (Maurer-Spurej, 2005). Finalement, l'escitalopram aurait un effet limité sur les troubles du sommeil.

Étant donné l'observation des changements dans les symptômes dépressifs de manière concomitante à des changements dans les cytokines suite à l'IM et au traitement avec l'escitalopram, l'effet d'un inhibiteur des cytokines proinflammatoires (Pentoxifylline) à été testé spécifiquement sur les symptômes dépressifs. Ce qui a abouti à la troisième étude intitulée "*Antidepressant-like Effects of Pentoxifylline Following Acute Myocardial Infarction in the Rat*", nous a permis d'investiguer l'effet de l'inhibition des cytokines proinflammatoires par la pentoxifylline sur le syndrome comportemental dépressif post-infarctus dans notre modèle animal.

Comme dans la deuxième étude et nos études précédentes, les symptômes dépressifs ont été évalués par les tests de nage forcée et de la préférence au sucrose. Dans cette dernière étude, nous avons pu répliquer nos résultats de la deuxième étude et les études précédentes où les rats IM présentent à la fois de la détresse comportementale et de l'anhédonie (Bah et coll., soumis 2010; Wann et coll., 2007; 2009). Le traitement avec le PTX s'est révélé être efficace dans le renversement de l'anhédonie, la diminution du temps d'immobilité et l'augmentation du temps de nage chez les animaux IM comparés aux témoins. De plus, l'administration du PTX 15 minutes avant l'ischémie n'avait aucun effet sur la taille de l'infarctus et était similaire chez tous les groupes et dans la même direction

que les résultats obtenus avec la sertraline (Wann et coll., 2009) et l'escitalopram (Bah et coll., 2010). Le PTX s'est aussi avéré efficace dans le renversement des niveaux plasmatiques de l'IL-1 β chez les rats IM. Ce qui conférerait au PTX un rôle potentiel antidépresseur après un IM. Plusieurs mécanismes pourraient expliquer ce potentiel antidépresseur ou effet bénéfique du PTX dans notre modèle.

Tout d'abord, le PTX qui a un effet inhibiteur sur la production des RLO pourrait activer le NF- κ B (Coimbra et coll., 2004a; Ndengele et coll., 2005). Deuxièmement, le PTX entraîne l'accumulation rapide de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) et l'activation de la protéine kinase A (PKA) (Coimbra et coll., 2004b), mécanisme semblable à l'action des antidépresseurs. D'une part, l'augmentation de l'AMPc pourrait conduire à une augmentation de l'activité du facteur neurotrophique de la protéine de liaison (CREB) qui induirait des augmentations dans l'expression du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) nécessaire à la survie et au fonctionnement des neurones (Tapia-Arancibia et coll., 2004). D'autre part, cette augmentation conduirait à l'inhibition de l'expression des gènes pro-inflammatoires dépendants du NF- κ B par un mécanisme dépendant de la PKA (Coimbra et coll., 2005; Minguet et coll., 2005). Une troisième possibilité consiste à la compétition entre les facteurs de transcription dans leur co-activation. Les deux formes phosphorylées (CREB et NF- κ B) requièrent une coactivation par la protéine CREB-liée (CBP) pour l'initiation optimale de l'activité transcriptionnelle (Abraham, 2000). Ces deux formes sont en compétition pour la même extrémité N-terminale de CBP qui existe dans le noyau des cellules seulement en quantité limitée. Le PTX pourrait moduler la compétition des facteurs de transcription de CBP vers CREB et par la suite réduire la transcription de NF- κ B. Le PTX agirait aussi sur l'expression des molécules d'adhésion en diminuant le recrutement des cellules mononucléées au sein des sites inflammatoires. Il diminue également l'agrégation plaquettaire et restaure l'activité anticoagulante de l'endothélium en prévenant la diminution de l'expression de la thrombomoduline induite par le TNF- α . Finalement, les propriétés anti-inflammatoires du PTX incluant l'inhibition de la production

du TNF- α (Gutiérrez et coll., 2006) sembleraient être dues à une réduction du taux de TNF- α causée par l'inhibition de la transcription de ses ARNm (Lin et coll., 2005). Il inhibe également l'IL-1 β , l'IL-6 et réduit l'apoptose observée dans le cerveau (Ji et coll., 2010).

En conclusion, le PTX atténue le syndrome comportemental dépressif post-infarctus dans notre modèle. C'est aussi la première fois qu'un traitement autre qu'un antidépresseur agisse ainsi dans notre modèle.

Signification scientifique des résultats de la thèse

Chez l'humain, la dépression qui survient à la suite d'un infarctus du myocarde a un impact négatif majeur sur le pronostic cardiovasculaire. Il augmente de 4 à 5 fois la mortalité et la morbidité dans les 18 mois suivants l'infarctus du myocarde (Frasure-Smith et coll., 1993; Frasure-Smith et coll., 1995; Ladwig et coll., 1994) principalement dues aux arythmies cardiaques (Strik et coll., 2001). Nous avons réussi pour la première fois à développer un modèle animal qui mime cette problématique de santé qu'on retrouve dans la population générale (Wann et coll., 2007). Les résultats de nos études précédentes ont permis de montrer que ce modèle animal présente des signes comportementaux de dépression et des perturbations biochimiques comparables à d'autres modèles animaux de dépression (Song et Leonard, 2005; Willner, 2005; Adrien et coll., 1991; Vogel et coll., 1990; Overstreet et coll., 2005). Des preuves convergentes montrent que le syndrome comportement post-IM est sensible aux effets de divers antidépresseurs comme d'autres modèles animaux de dépression d'une part; mais aussi aux inhibiteurs des cytokines proinflammatoires d'autre part.

L'administration précoce de l'antidépresseur avait pour but de prévenir non seulement la dépression (Hansen et coll., 2009), mais aussi les dommages éventuels causés à la suite de l'IM. Tandis que le PTX avait pour but d'empêcher le mécanisme de libération des cytokines proinflammatoires. L'escitalopram (antidépresseur de la classe des ISRSs) peut entraîner une déplétion de sérotonine dans les plaquettes en inhibant la recapture de la sérotonine (Javors et coll., 2000; Markovitz et coll., 2000) empêchant ainsi l'agrégation plaquettaire. Ce qui pourrait induire une cardioprotection en augmentant le rythme cardiaque (McFarlane et coll., 2001) et réduire considérablement les risques de récurrence d'IM. Ensuite, cela permettrait de réduire les risques de développement de la dépression post-IM. Ces types de traitement préventif pourraient être envisagés en clinique et complétés par une thérapie comportementale pour une meilleure prise en charge des patients à la suite d'un IM.

Les changements dans le comportement dépressif ne sont pas tous associés aux changements biochimiques comme le démontre l'IL-6 et la corticostérone dans l'étude 2 et l'IL-6 et le TNF- α dans l'étude 3. La plupart de l'activité stimulante de l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalien dans le plasma proviendrait du TNF- α , de l'IL-1 et de l'IL-6, qui sont produites sur les sites inflammatoires et ailleurs en réponse à l'inflammation. La synthèse du TNF- α par l'hypothalamus augmente très rapidement dans les minutes suivant l'IM (Francis et coll., 2004). Le TNF- α semble à peu près apparaître au même moment dans le plasma que dans le cerveau et le cœur, ce qui suggère que la synthèse accrue des cytokines pro-inflammatoires dans ces tissus est un prodrome de l'inflammation généralisée. Dans la plupart des situations, le TNF- α apparaît en premier, suivie de la sécrétion en tandem de l'IL-1 et de l'IL-6. Ces trois cytokines stimulent leur propre sécrétion par les cellules qui les produisent. En outre, le TNF- α et l'IL-1 stimulent la sécrétion de l'IL-6, alors que l'IL-6 inhibe la sécrétion de TNF- α et de l'IL-1 (Chrousos, 1999). Cette dynamique dans la cascade des cytokines proinflammatoires semble bien correspondre aux résultats des études 2 et 3.

Les résultats du sommeil montrent un allongement de la latence au sommeil et un raccourcissement de la latence au sommeil PS comparables avec d'autres modèles animaux de dépression (Song et Leonard, 2005; Willner, 2005; Adrien et coll., 1991; Vogel et coll., 1990; Overstreet et coll., 2005). On observe également une réduction de la durée du sommeil PS répliquant ainsi les données post-IM chez les humains (Broughton et Baron, 1978; BaHammam, 2006). Certains auteurs suggèrent que la quantité et la fréquence du SP sont sous la dépendance de la régulation homéostatique du SOL (Benington et Heller, 1994a,b) et que la pression accrue du SP supprime le SOL (Beersma et coll., 1990; Benington et coll., 1994; Endo et coll., 1997). Tandis que d'autres (Vivaldi et coll., 1994a,b; Ocampo-Garces et coll., 2000; Franken, 2002) soutiennent que ce processus est indépendant de la régulation homéostatique du SOL. Toutefois, de nombreuses études de privation sélective de SP ont montré que durant la privation, il se produit plus fréquemment des tentatives de transitions vers le SP, signe d'une forte dynamique homéostatique du SP

(Endo et coll., 1997, 1998; Ocampo-Garces et coll., 2000; Werth et coll., 2002; Datta et coll., 2004). On pourrait donc penser que la diminution de SP dans notre étude puisse ressembler à une privation sélective de SP et en se sens on pourrait déterminer les changements spécifiques dans l'activité des ondes delta, thêta, alpha, bêta, et gamma provoqué par la réduction du SP. La présence d'insomnie quant à elle, s'expliquerait en partie par la réduction du nombre de neurones cholinergiques dans le PPT (Bah et coll., 2010), mais aussi par l'augmentation du niveau des cytokines proinflammatoires pouvant inhiber le SP (Kapsimalis et coll., 2005). Comme chez les patients insomniaques, on pourrait s'attendre à une augmentation de l'activité bêta et sigma et une diminution de l'activité delta (Lanfranchi et coll., 2009) dans notre modèle. Toutefois, les marqueurs EEG de l'homéostasie du SP restent encore mal connus (Shea et coll., 2008).

Les résultats de cette thèse ont permis d'apporter une meilleure compréhension du syndrome comportement dépressif post-infarctus de notre modèle où la composante de l'inflammation semble jouer un rôle important. Finalement, une convergence d'évidences nous laisse croire que ce syndrome comportemental dépressif post-IM serait atypique et des recherches supplémentaires seront nécessaires autant chez l'homme que chez l'animal pour caractériser complètement sa physiopathologie en vue d'une meilleure prise en charge des patients.

Limites et perspectives

À présent, il est à signaler que certaines questions soulevées dans cette thèse demeurent toutefois sans réponse même si nous avons progressé dans la caractérisation et la compréhension physiopathologique de notre modèle animal.

La première étude n'avait pas évalué les symptômes dépressifs des animaux. Nous ne savons donc pas la proportion des animaux qui présentaient les symptômes rapportés dans cette étude. Mais ceci tenait compte du fait que nous avons déjà montré dans nos études précédentes que les animaux présentaient des symptômes de dépression après à un infarctus du myocarde (anhédonie et détresse comportementale) de même que des perturbations biochimiques apparentées à la dépression (Wann et coll., 2006, 2007, 2009) avec le même modèle. Nous avons tenu pour acquis que les animaux présenteraient ces symptômes car l'objectif était de caractériser l'architecture du sommeil. De plus, dans aucune de nos études, nous n'avions investigué la contribution de l'hypoxie pour connaître la contribution exacte du manque d'oxygénation du cerveau lors de l'infarctus du myocarde. Ceci nous aurait permis d'établir un lien avec les perturbations comportementales et biochimiques observées. D'où la nécessité de tenter de répondre à cette problématique d'hypoxie dans les prochaines études.

Par ailleurs, notre technique d'enregistrement du sommeil étant invasive, de ce fait, nous n'avions pas pu enregistrer le sommeil des animaux immédiatement après l'infarctus du myocarde comme cela aurait été souhaitable. Il serait donc intéressant de se doter d'une technique non invasive permettant d'accéder aux données polysomnographiques immédiatement après l'infarctus du myocarde dans le but de dresser un profil et un décours temporel du sommeil. Nos recherches indiquent que le système de télémétrie de *Data Science International* (DSI) serait une alternative envisageable qui aurait l'avantage de fournir des données de biopotentiels (étude des phénomènes électriques liés aux activités vitales), de pression et de température. Puisque nous avons caractérisé la macrostructure du

sommeil après un infarctus du myocarde, il serait aussi intéressant d'étudier la microstructure du sommeil et l'analyse spectrale en lien avec le sommeil paradoxal.

Finalement, vu que nous travaillons sur des jeunes adultes, il se pourrait que les résultats obtenus ne reflètent pas nécessairement ce que l'on aurait observé chez des animaux d'âge moyen ou vieillissant. Car l'incidence de l'IM augmente considérablement avec l'âge où les patients âgés sont plus susceptibles de développer un IM que les jeunes patients (Shih et coll., 2011). Pour ce faire, nous avons amorcé de nouvelles expériences avec des animaux d'âge moyen (rats Sprague-Dawley, âgés de 8 mois). Les résultats indiquent que les animaux ayant subi un infarctus du myocarde (rats IM) montraient un temps de nage plus court et un temps d'immobilité plus élevé au test de nage forcé que les témoins du même âge. Dans le test d'orientation spatiale (labyrinthe aquatique de Morris), les rats IM mettent plus de temps pour atteindre la plate-forme cible par rapport aux témoins, et ce, même après 6 jours d'apprentissage. Le labyrinthe aquatique de Morris repose sur l'intégrité de la région CA3 de l'hippocampe (Morris, 1984) et la performance à ce test s'est révélée normale chez les jeunes rats adultes post-IM (Wann et coll., 2007). De plus, l'apoptose dans cette région n'a pas été observée chez les jeunes adultes (Wann et coll., 2009). Puisque la performance des rats dans le labyrinthe aquatique de Morris se détériore habituellement avec l'âge, nous pensons que les effets de l'infarctus du myocarde seraient plus dommageables avec le vieillissement. Nous proposons dans un futur proche l'utilisation d'animaux d'âge moyen pour que le modèle soit mieux représentatif de ce que l'on observe chez l'humain.

Conclusion

Tel que démontré dans cette thèse, en plus de pouvoir causer la dépression, l'IM est aussi associé à la libération de cytokines proinflammatoires qui favorisent l'inflammation des tissus, y compris le cerveau, et en particulier les régions qui contrôlent le sommeil et les émotions. Après un IM, les rats présentaient à la fois des troubles du sommeil, de l'anhédonie et de la détresse comportementale comparables à ceux des autres modèles animaux de dépression. L'IM est accompagné d'une insomnie spécifique au SP, possiblement due à la perte de neurones cholinergiques dans le PPT, structure qui serait plus sensible aux dommages induits par l'IM que le LDT. Les symptômes de dépression ont été prévenus par l'administration de l'escitalopram et de la pentoxifylline. Toutefois, l'escitalopram aurait un effet limité sur les troubles du sommeil. Par cette étude, nous avons pu démontrer que le cœur et le cerveau seraient encore plus liés qu'on l'aurait imaginé. Pour la première fois, nous avons apporté une explication scientifique à la présence d'insomnie après un infarctus du myocarde autre que par les mécanismes du stress habituellement rapportés.

Il est donc important d'intervenir rapidement chez les patients dès les premiers jours qui suivent l'infarctus du myocarde, et avant même l'apparition des premiers signes d'insomnie et de dépression. Mieux, une combinaison de traitements pharmacologiques (antidépresseurs et inhibiteurs de la synthèse des cytokines proinflammatoires) et comportementaux serait une voie intéressante à considérer dans la prise en charge de ces patients.

Bibliographie

Abad VC, Guilleminault C. Sleep and psychiatry. *Dialogues Clin Neurosci*. 2005;7(4):291-303.

Abraham E. NF-kappaB activation. *Crit Care Med*. 2000;28(4 Suppl):N100-4.

Adrien J, Dugovic C, Martin P. Sleep-wakefulness patterns in the helpless rat. *Physiol Behav* 1991;49:257-62.

Allen MT, Patterson SM. Hemoconcentration and stress: a review of physiological mechanisms and relevance for cardiovascular disease risk. *Biol Psychol* 1995;41:1–27.

American Psychiatric Association. 2000. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th revised edition, Washington, DC: American Psychiatric Association Press.

Anda R, Williamson D, Jones D, Macera C, Eaker E, Glassman A, Marks J. Depressed affect, hopelessness, and the risk of ischemic heart disease in a cohort of U.S. adults. *Epidemiology* 1993;4:285–294.

Angst J, Gamma A, Rössler W, Ajdacic V, Klein DN. Long-term depression versus episodic major depression: results from the prospective Zurich study of a community sample. *J Affect Disord*. 2009;115(1-2):112-21.

Ansorge MS, Hen R, Gingrich JA. Neurodevelopmental origins of depressive disorders. *Curr Opin Pharmacol* 2007;7:8–17.

- Arlt J, Jahn H, Kellner M, Stroöhle A, Yassouridis A, Wiedemann K. Modulation of sympathetic activity by corticotropin-releasing hormone and atrial natriuretic peptide. *Neuropeptides* 2003;37:362–368.
- Armitage R and Hoffmann R. Sleep electrophysiology of major depressive disorders. *Curr Rev Mood Anx Disord* 1997;1:139–51.
- Armitage R, Hudson A, Trivedi M, Rush AJ. Sex differences in the distribution of EEG frequencies during sleep: unipolar depressed outpatients. *J Affect Disord* 1995;34:121–9.
- Armitage R, Roffwarg HP, Rush AJ, Calhoun JS, Purdy DG, Giles DE. Digital period analysis of sleep EEG in depression. *Biol Psychiatry* 1992;31:52–68.
- Armitage R, Roffwarg HP, Rush AJ. Digital period analysis of EEG in depression: periodicity, coherence, and interhemispheric relationships during sleep. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1993;17:363–72.
- Armitage R. Microarchitectural findings in sleep EEG in depression: diagnostic implications. *Biol Psychiatry* 1995; 37:72–84.
- Armitage R. The effects of antidepressants on sleep in patients with depression. *Can J Psychiatry*. 2000;45(9):803-9.
- Aserinsky E and Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science* 1953;118:273–274.

- Atiga WL, Calkins H, Lawrence JH, Tomaselli GF, Smith JM, Berger RD. Beat-to-beat repolarization lability identifies patients at risk for sudden cardiac death. *J Cardiovasc Electrophysiol* 1998; 9:899–908.
- Bah TM, Laplante F, Wann BP, Sullivan R, Rousseau G, Godbout R. Paradoxical sleep insomnia and decreased cholinergic neurons after myocardial infarction in rats. *Sleep*. 2010;33(12):1703-10.
- Bah TM, Benderdour M, Kaloustian S, Karam R, Rousseau G, Godbout R. Escitalopram reduces circulating proinflammatory cytokines and improves depressive behavior without affecting sleep in a rat model of post cardiac infarct depression. Submitted to *Biological Psychiatry*, December 2010.
- BaHamam A. Sleep quality of patients with acute myocardial infarction outside the CCU environment: a preliminary study. *Med Sci Monit* 2006; 12:CR168-72.
- Banks WA, Kastin AJ, Durham DA. Bidirectional transport of interleukin-1 alpha across the blood-brain barrier. *Brain Res Bull*. 1989;23(6):433-7.
- Banks WA, Ortiz L, Plotkin SR, Kastin AJ. Human interleukin (IL) 1 alpha, murine IL-1 alpha and murine IL-1 beta are transported from blood to brain in the mouse by a shared saturable mechanism. *J Pharmacol Exp Ther*. 1991;259(3):988-96.
- Barefoot JC, Helms MJ, Mark DB, Blumenthal JA, Califf RM, Haney TL, O'Connor CM, Siegler IC, Williams RB. Depression and long-term mortality risk in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1996; 78:613–7.

- Bareggi SR, Mundo E, Dell'Osso B, Altamura AC. The use of escitalopram beyond major depression: pharmacological aspects, efficacy and tolerability in anxiety disorders. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2007;3:741-753.
- Basterzi AD, Aydemir C, Kisa C, Aksaray S, Tuzer V, Yazici K, et al. IL-6 levels decrease with SSRI treatment in patients with major depression. *Hum Psychopharmacol.* 2005;20:473-476.
- Beere PA, Glagov S, Zarins CK. Retarding effect of lowered heart rate on coronary atherosclerosis. *Science* 1984; 226:180–2.
- Beersma DG, Dijk DJ, Blok CG, Everhardus I. REM sleep deprivation during 5 hours leads to an immediate REM sleep rebound and to suppression of non-REM sleep intensity. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1990;76:114-22.
- Belmaker RH, Agam G. Major depressive disorder. *N Engl J Med* 2008;358:55–68.
- Benca RM (1996): Sleep in psychiatric disorders. *Neurol Clin.* 14:739-764.
- Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA, Gillin JC. Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:651–668.
- Bengtsson, B. O., Zhu, J., Thorell, L. H., Olsson, T., Link, H., & Walinder, J. Effects of zimeldine and its metabolites, clomipramine, imipramine, and maprotiline in experimental allergic neuritis in Lewis rats. *J. Neuroimmunol.* 1992;39:109–122.
- Benington JH, Heller HC. Does the function of REM sleep concern non-REM sleep or waking? *Prog Neurobiol.* 1994a;44:433-49.

- Benington JH, Heller HC. REM-sleep timing is controlled homeostatically by accumulation of REM-sleep propensity in non-REM sleep. *Am J Physiol.* 1994b;266:R1992-2000.
- Benington JH, Woudenberg MC, Heller HC. REM-sleep propensity accumulates during 2-h REM-sleep deprivation in the rest period in rats. *Neurosci Lett.* 1994;180:76-80
- Berger HJ, Zaret BL, Speroff L, Cohen LS, Wolfson S. Regional cardiac prostaglandin release during myocardial ischemia in anesthetized dogs. *Circ Res.* 1976;38:566-571.
- Berger M, Riemann D. REM sleep in depression - an overview. *J Sleep Res* 1993;2:211–23.
- Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. Atherosclerosis: basic mechanisms. *Circulation* 1995;91:2488 –96.
- Bigger JT Jr, Fleiss JL, Rolnitzky LM, Steinman RC. Frequency domain measures of heart period variability to assess risk late after myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1993;21:729–736.
- Bonnemeier H, Hartmann F, Wiegand UKH, Bode F, Katus HA, Richardt G. Course and prognostic implications of QT interval and QT interval variability after primary coronary angioplasty in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:44–50.

- Bonnet F, Irving K, Terra JL, Nony P, Berthezène F, Moulin P. Anxiety and depression are associated with unhealthy lifestyle in patients at risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2005;178(2):339-44.
- Borbély AA, Tobler I, Loepfe M, Kupfer DJ, Ulrich RF, Grochocinski V, and others. All-night spectral analysis of the sleep EEG in untreated depressives and normal controls. *Psychiatry Res* 1984;12:27–33.
- Boucetta S, Jones BE. Activity profiles of cholinergic and intermingled GABAergic and putative glutamatergic neurons in the pontomesencephalic tegmentum of urethane-anesthetized rats. *J Neurosci*. 2009;29(14):4664-74.
- Broadley AJ, Korszun A, Abdelaal E, et al. Metirapone improves endothelial dysfunction in patients with treated depression. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:170–175.
- Broadley AJM, Korszun A, Jones CJH, Frenneaux MP. Arterial endothelial function is impaired in treated depression. *Heart* 2002;88:521–523.
- Broughton R and Baron R. Sleep patterns in the intensive care unit and on the ward after acute myocardial infarction. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1978;45:348-60.
- Bruce EC and Musselman DL. Depression, alterations in platelet function, and ischemic heart disease. *Psychosom Med*. 2005;67 Suppl 1:S34-6.
- Buja LM. Myocardial ischemia and reperfusion injury. *Cardiovasc Pathol*. 2005;14(4):170-5.

- Buja LM. Lipid abnormalities in myocardial cell injury. *Trends Cardiovasc Med* 1991;1:40–5.
- Buja LM, Hagler HK, Willerson JT. Altered calcium homeostasis in the pathogenesis of myocardial ischemic and hypoxic injury. *Cell Calcium* 1988;9:205– 17.
- Buja LM. Modulation of the myocardial response to ischemia. *Lab Invest* 1998;78:1345–73.
- Bush DE, Ziegelstein RC, Tayback M, Richter D, Stevens S, Zahalsky H, Fauerbach JA. Even minimal symptoms of depression increase mortality risk after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2001;88(4):337-41.
- Calabresi L, Rossoni G, Gomaschi M, Sisto F, Berti F, Franceschini G. High-density lipoproteins protect isolated rat hearts from ischemia-reperfusion injury by reducing cardiac tumor necrosis factor- α content and enhancing prostaglandin release. *Circ Res*. 2003;92:330-337.
- Carney RM, Freedland KE, Veith RC. Depression, the autonomic nervous system, and coronary heart disease. *Psychosom Med*. 2005; 67 Suppl 1:S29-33.
- Carney RM, Freedland KE, Stein PK, Miller GE, Steinmeyer B, Rich MW, Duntley SP. Heart rate variability and markers of inflammation and coagulation in depressed patients with coronary heart disease. *J Psychosom Res*. 2007;62(4):463-7.
- Carney RM, Freedland KE, Stein PK, Watkins LL, Catellier D, Jaffe AS, et al. Effects of depression on QT interval variability after myocardial infarction. *Psychosom Med*. 2003;65:177-80.

- Carney RM, Freedland KE. Depression, mortality, and medical morbidity in patients with coronary heart disease. *Biol Psychiatry* 2003;54(3):241-7.
- Carney RM, Rich MW, Freedland KE, teVelde A, Saini J, Simeone C, Clark K. Major depressive disorder predicts cardiac events in patients with coronary artery disease. *Psychosom Med* 1988; 50:627–33.
- Chatelain P, Latour JG, Tran D, de Lorgeril M, Dupras G, Bourassa M. Neutrophil accumulation in experimental myocardial infarcts: relation with extent of injury and effect of reperfusion. *Circulation* 1987;75(5):1083-90.
- Cho L, Tsunoda M, Sharma RP. Effects of endotoxin and tumor necrosis factor alpha on regional brain neurotransmitters in mice. *Nat Toxins*. 1999;7:187–195.
- Chrousos JP. The Stress Response and Immune Function: Clinical Implications. The 1999 Novera H Spector Lecture.
- Classification statistique internationale des maladies et des problèmes de santé connexes, Dixième révision. CIM-10, Edition 2008, Organisation mondiale de la santé.
- Cohn JN. Relationship of plasma volume changes to resistance and capacitance vessel effects of sympathomimetic amines and angiotensin in man. *Clin Sci* 1966;30:267–278.
- Coimbra R, Melbostad H, Loomis W, Tobar M, Hoyt DB. Phosphodiesterase inhibition decreases nuclear factor-kappaB activation and shifts the cytokine response toward anti-inflammatory activity in acute endotoxemia. *J Trauma* 2005;59:575–82.

- Coimbra R, Loomis W, Melbostad H, Tobar M, Porcides RD, Hoyt DB. LPS-stimulated PMN activation and proinflammatory mediator synthesis is downregulated by phosphodiesterase inhibition: role of pentoxifylline. *J Trauma* 2004a;57:1157–63.
- Coimbra R, Melbostad H, Hoyt DB. Effects of phosphodiesterase inhibition on the inflammatory response after shock: role of pentoxifylline. *J Trauma* 2004b;56:442–9.
- Connor TJ, Leonard BE. Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci.* 1998;62(7):583-606.
- Cottart CH, Laguillier C, Nivet-Antoine V, Klimczak C, Sebban C, Beaudeux JL. Biology of arterial ageing and arteriosclerosis. *C R Biol.* 2009;332(5):433-47.
- Cunningham Jr. ET, De Souza EB. Interleukin 1 receptors in the brain and endocrine tissues. *Immunol Today* 1993;14:171–6.
- Dale WE, Dang Y, Brown OR. Tryptophan metabolism through the kynurenine pathway in rat brain and liver slices. *Free Radic Biol Med.* 2000;29:191–198.
- Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Fibrinogen, C-reactive protein, albumin, and white cell count: meta-analyses of prospective studies of coronary heart disease. *J Am Med Assoc* 2000;279:1477–82.
- Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann NY Acad Sci.* 2001;933:222–234.

- Dantzer R. How do cytokines say hello to the brain? Neural versus humoral mediation. *Eur Cytokine Netw.* 1994;5(3):271-3.
- Datta S, Mavanji V, Ulloor J, Patterson EH. Activation of phasic pontine-wave generator prevents rapid eye movement sleep deprivation-induced learning impairment in the rat: a mechanism for sleep-dependent plasticity. *J Neurosci.* 2004;24:1416-27.
- Dement W and Kleitman N. The relation of eye movements during sleep to dream activity: an objective method for the study of dreaming. *J. Exp. Psychol. Learn. Mem. Cogn.* 1957;53, 339–346.
- Dentino AN, Pieper CF, Rao KMK, Currie MS, Harris T, Blazer DG, Cohen HJ. Association of interleukin-6 and other biologic variables with depression in older people living in the community. *J Am Geriatr Soc* 1999; 47:6– 11.
- Detke MJ, Rickels M, Lucki I. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berl).* 1995;121(1):66-72.
- Drevets WC. Neuroimaging studies of mood disorders: Implications for a neural model of major depression. *Biol. Psychiatry* 2000;48, 813–829.
- Dunn AJ. Endotoxin-induced activation of cerebral catecholamine and serotonin metabolism: comparison with interleukin-1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1992;261, 964–969.

- El Khoury A, Gruber SH, Mork A, Mathe AA. Adult life behavioral consequences of early maternal separation are alleviated by escitalopram treatment in a rat model of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2006;30:535-540.
- Endo T, Schwierin B, Borbely AA, Tobler I. Selective and total sleep deprivation: effect on the sleep EEG in the rat. *Psychiatry Res.* 1997;66:97-110.
- Endo T, Roth C, Landolt HP, Werth E, Aeschbach D, Achermann P, et al. Selective REM sleep deprivation in humans: effects on sleep and sleep EEG. *Am J Physiol.* 1998;274:R1186-94.
- Ferdinandy P, Schulz R, Baxter GF. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. *Pharmacol Rev.* 2007;59(4):418-58.
- Finnerty FA Jr, Buchholz JH, Guillaudeu RL. The blood volumes and plasma protein during levarterenol-induced hypertension. *J Clin Invest* 1958;37:425-429.
- Fleshner M, Goehler LE, Hermann J, Relton JK, Maier SF, Watkins LR. Interleukin-1 beta induced corticosterone elevation and hypothalamic NE déplétion is vagally mediated. *Brain Res Bull.* 1995;37(6):605-10.
- Francis J, Chu Y, Johnson AK, Weiss RM, Felder RB. Acute myocardial infarction induces hypothalamic cytokine synthesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286(6):H2264-71.
- Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2002;53(1):31-47.

- Franken P. Long-term vs. short-term processes regulating REM sleep. *J Sleep Res.* 2002;11:17-28.
- Frasure-Smith N, Lespérance F. Depression and cardiac risk: present status and future directions. *Postgrad Med J.* 2010;86(1014):193-6.
- Frasure-Smith N, Lespérance F, Talajic M. Depression and 18 month prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 1995;91:999–1005.
- Frasure-Smith N, Lespérance F, Talajic M. Depression following myocardial infarction: impact on 6-month survival. *JAMA.* 1993;270:1819-1825.
- Frasure-Smith N. and Lespérance F. Depression and other psychological risks following myocardial infarction. *Arch Gen Psychiatry.* 2003;60(6):627-36.
- Ganz P and Braunwald E. Coronary blood flow and myocardial ischemia, in *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine* (Braunwald E ed) pp 1161–1183, WB Saunders, Philadelphia, 1997.
- Gorman JM, Sloan RP. Heart rate variability in depressive and anxiety disorders. *Am Heart J* 2000; 140(Suppl 4):77 - 83.
- Greco MA, Magner M, Overstreet D, Shiromani PJ. Expression of cholinergic markers in the pons of Flinders rats. *Brain Res Mol Brain Res.* 1998;55(2):232-6.
- Grippe AJ. Mechanisms underlying altered mood and cardiovascular dysfunction: the value of neurobiological and behavioral research with animal models. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009;33(2):171-80.

- Grippe AJ, Beltz TG, Weiss RM, Johnson AK. The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia. *Biol Psychiatry*. 2006;59:309-16.
- Grippe AJ and Johnson AK. Biological mechanisms in the relationship between depression and heart disease. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002;26(8):941-62.
- Guck TP, Kavan MG, Elsasser GN, Barone EJ. Assessment and treatment of depression following myocardial infarction. *Am Fam Physician*. 2001;64(4):641-8.
- Gutiérrez EG, Banks WA, Kastin AJ. Murine tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse. *J Neuroimmunol*. 1993;47(2):169-76.
- Gutiérrez M, Díez Tejedor E, Alonso de Lecinana M, Fuentes B, Carceller F, Roda JM. Thrombolysis and neuroprotection in cerebral ischemia. *Cerebrovasc Dis Suppl* 2006;2:118–26.
- Hayley S, Poulter MO, Merali Z, Anisman H. The pathogenesis of clinical depression: stressor- and cytokine-induced alterations of neuroplasticity. *Neuroscience* 2005; 135:659–678
- Heidland UE, Strauer BE. Left ventricular muscle mass and elevated heart rate are associated with coronary plaque disruption. *Circulation* 2001;104:1477– 82.
- Hansen BH, Hanash JA, Rasmussen A, Hansen JF, Birket-Smith M. Rationale, design and methodology of a double-blind, randomized, placebo-controlled study of escitalopram in prevention of Depression in Acute Coronary Syndrome (DECARD). *Trials*. 2009;10:20.

- Hearse DJ. Myocardial ischemia: can we agree on a definition for the 21st century? *Cardiovasc Res* 1996; 28:1737–1744.
- Herbert TB, Cohen S. Depression and immunity: a meta-analytic review. *Psychol Bull* 1993;113:472–86.
- Herdson PB, Sommers HM, Jennings RB. A comparative study of the fine structure of normal and ischemic dog myocardium with special reference to early changes following temporary occlusion of a coronary artery. *Am J Pathol* 1965;46:367–386.
- Heyes MP, Saito K, Crowley JS, Davis LE, Demitrack MA, Der M, Dilling LA, Elia J, Kruesi MJ, Lackner A, et al. Quinolinic acid and kynurenine pathway metabolism in inflammatory and non-inflammatory neurological disease. *Brain* 1992;115:1249–1273.
- Hildreth CM, Padley JR, Pilowsky PM, Goodchild AK. Impaired serotonergic regulation of heart rate may underlie reduced baroreflex sensitivity in an animal model of depression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H474–H480.
- Hirano T. Molecular basis underlying functional pleiotropy of cytokines and growth factors. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;260(2):303–8.
- Hobson, J. A., McCarley, R. W. & Wyzinski, P. W. Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 1975;189, 55–58.
- Hoschl C and Svestka J. Escitalopram for the treatment of major depression and anxiety disorders *Expert Rev. Neurotherapeutics* 2008;8(4), 537–552.

- Irwin MW, Mak S, Mann DL, Qu R, Penninger JM, Yan A, Dawood F, Wen WH, Shou Z, Liu P. Tissue expression and immunolocalization of tumor necrosis factor-alpha in post-infarction-dysfunctional myocardium. *Circulation*. 99: 1492–8; 1999.
- Irwin, M. Immune correlates of depression. In: Dantzer, R., Wollman, E.E., Yirmiya, R. (Eds.), *Cytokines, Stress and Depression*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 1– 24; 1999.
- Jacque C et Thurin JM. Stress, immunité et physiologie du système nerveux. *Médecine/Sciences* 2002;18 (11):1160-6.
- James TN. Normal and abnormal consequences of apoptosis in the human heart. From postnatal morphogenesis to paroxysmal arrhythmias. *Circulation*. 90, 556– 573; 1994.
- Jan F. *Cardiologie*. 2005, 2e édition, Masson.
- Javors MA, Houston JP, Tekell JL, Brannan SK, Frazer A. Reduction of platelet serotonin content in depressed patients treated with either paroxetine or desipramine. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2000;3:229-35.
- Jennings RB, Reimer KA, Hill ML, and Mayer SE. Total ischemia in dog hearts, in vitro. 1. Comparison of high energy phosphate production, utilization, and depletion, and of adenine nucleotide catabolism in total ischemia in vitro vs. severe ischemia in vivo. *Circ Res* 1981;49:892–900.

- Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol.* 1960;70:68 – 78.
- Ji Q, Jia H, Dai H, Li W, Zhang L. Protective effects of pentoxifylline on the brain following remote burn injury. *Burns.* 2010;36(8):1300-8.
- Jiang W, Krishnan RR, O'Connor CM: Depression and heart disease: evidence of a link, and its therapeutic implications. *CNS Drugs* 2002;16:111–127.
- Johanson CE, Donahue JE, Spangenberg A, Stopa EG, Duncan JA, Sharma HS. Atrial natriuretic peptide: its putative role in modulating the choroid plexus-CSF system for intracranial pressure regulation. *Acta Neurochir Suppl* 2006;96:451–456.
- Jones BE. and Beaudet A. Distribution of acetylcholine and catecholamine neurons in the cat brainstem: A choline acetyltransferase and tyrosine hydroxylase immunohistochemical study, *J. Comp. Neurol.* 1987;261:15-32.
- Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 43: 860–78; 1999.
- Jouvet M and Michel F. Corrélations électromyographiques du sommeil chez le chat décortiqué et mésencéphalique chronique. *C.R. Soc. Biol.* 1959;153, 422–425.
- Kaloustian S, Bah TM, Rondeau I, Mathieu S, Lada-Moldovan L, Ryvlin P, Godbout R, Rousseau G. Tumor necrosis factor-alpha participates in apoptosis in the limbic system after myocardial infarction. *Apoptosis.* 2009;14(11):1308-16.

- Kaloustian S, Wann BP, Bah TM, Falcao S, Dufort AM, Ryvlin P, Godbout R, Rousseau G. Celecoxib after the onset of reperfusion reduces apoptosis in the amygdala. *Apoptosis*. 2007;12(11):1945-51.
- Kaloustian S, Wann BP, Bah TM, Girard SA, Apostolakis A, Ishak S, Mathieu S, Ryvlin P, Godbout R, Rousseau G. Apoptosis time course in the limbic system after myocardial infarction in the rat. *Brain Res*. 2008;1216:87-91.
- Kannel WB, Kannel C, Paffenbarger RS, Cupples LA. Heart rate and cardiovascular mortality: the Framingham study. *Am Heart J* 1987;113: 1489–94.
- Kapadia S, Lee J, Torre-Amione G, Birdsall HH, Ma TS, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium after endotoxin administration. *J Clin Invest*. 96:1042–52; 1995.
- Kapadia SR, Oral H, Lee J, Nakano M, Taffet GE, Mann DL. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res*. 81:187–95; 1997
- Kapsimalis F, Richardson G, Opp MR, Kryger M. Cytokines and normal sleep. *Curr Opin Pulm Med*. 2005;11:481-484.
- Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet*. 2003;361:13–20.

- Kessler RC, Berglund P, Demler O, et al; National Comorbidity Survey Replication. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA* 2003;289:3095–3105.
- Kiecolt-Glaser JK, Glaser R. Depression and immune function: central pathways to morbidity and mortality. *J Psychosom Res.* 2002;53:873–876.
- Knowles JB, MacLean AW. Age-related changes in sleep in depressed and healthy subjects. A meta-analysis. *Neuropsychopharmacology* 1990;3:251–9.
- Komaki G, Arimura A, Koves K. Effect of intravenous injection of IL-1 beta on PGE2 levels in several brain areas as determined by microdialysis. *Am J Physiol.* 1992;262(2 Pt 1):E246-51.
- Krettek JE, Price JL. Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *J Comp Neurol.* 1978;15;178(2):225-54.
- Krown KA, PageMT, Nguyen C, et al. Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes: Involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death. *J Clin Invest* 1996; 98:2854–2865.
- Krueger JM, Fang J, Taishi P, Chen Z, Kushikata T, Gardi J. Sleep. A physiologic role for IL-1 beta and TNF-alpha. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;856:148-59.
- Krueger JM, Takahashi S, Kapás L, Bredow S, Roky R, Fang J, Floyd R, Renegar KB, Guha-Thakurta N, Novitsky S, et al. Cytokines in sleep regulation. *Adv Neuroimmunol.* 1995;5(2):171-88.

- Krueger JM, Karnovsky ML, Martin SA, Pappenheimer JR, Walter J & Biemann K. Peptidoglycans as promoters of slow-wave sleep. II. Somnogenic and pyrogenic activities of some naturally occurring muramyl peptides; correlations with mass spectrometric structure determination. *J. Biol. Chem.* 1984;259, 12659–12662.
- Kubera M, Lin AH, Kenis G, Bosmans E, van Bockstaele D, Maes M. Anti-Inflammatory effects of antidepressants through suppression of the interferon-gamma/interleukin-10 production ratio. *J Clin Psychopharmacol.* 2001;21(2):199-206.
- Kubera M, Simbirtsev A, Mathison R, Maes M. Effects of repeated fluoxetine and citalopram administration on cytokine release in C57BL/6 mice. *Psychiatry Res.* 2000;96:255-266.
- Kubota T, McTiernan CF, Frye CS, Slawson SE, Lemster BH, Koretsky AP, Demetris AJ, Feldman AM. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor- α . *Circ Res.* 1997;81(4):627-35.
- Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: diagnosis and management, part I. *Mayo Clin Proc.* 2009;84(10):917-38.
- Lada-Moldovan L, Kaloustian S, Bah TM, Girard SA, Déry MA, Rousseau G. Chronic pretreatment with celecoxib reduces infarct size. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2009;54(1):31-7.
- Ladwig KH, Roll G, Breithardt G, Budde T, Borggrefe M. Post-infarction depression and incomplete recovery 6 months after acute myocardial infarction. *Lancet.* 1994;343:20-3.

- Laghrissi-Thode F, Wagner WR, Pollock BG, Johnson PC, Finkel MS. Elevated platelet factor 4 and b-thromboglobulin plasma levels in depressed patients with ischemic heart disease. *Biol Psychiatry* 1997;42(4):290– 5.
- Lahmeyer HW and Bellier SN. Cardiac regulation and depression. *Psychiatr Res* 1987;21:1– 6.
- Lake CR, Pickar D, Ziegler MG, Lipper S, Slater S, Murphy DL. High plasma NE levels in patients with major affective disorder. *Am J Psychiatry* 1982;139:1315– 8.
- Lam RW. Sleep disturbances and depression: a challenge for antidepressants. *Int Clin Psychopharmacol*. 2006;21 Suppl 1:S25-9.
- Lanfranchi PA, Pennestri MH, Fradette L, Dumont M, Morin CM, Montplaisir J. Nighttime blood pressure in normotensive subjects with chronic insomnia: implications for cardiovascular risk. *Sleep*. 2009;32:760-6.
- LaRovere MT, Pinna GD, Hohnloser SH. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in identification of patients at risk for life-threatening arrhythmias: implications for clinical trials. *Circulation* 2001;103:2072–7.
- Lefkovits J, Plow EF, Topol EJ. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med*. 1995;332(23):1553-9.
- Leonard B. E. The immune system, depression and the action of antidepressants. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001;25(4): 767–780.

- Lespérance F, Frasure-Smith N, Talajic M, Bourassa MG. Five-year risk of cardiac mortality in relation to initial severity and one-year changes in depression symptoms after myocardial infarction. *Circulation*. 2002;105(9):1049-53.
- Lin SL, Chiang WC, Chen YM, Lai CF, Tsai TJ, Hsieh BS. The renoprotective potential of pentoxifylline in chronic kidney disease. *J Chin Med Assoc* 2005;68:99–105.
- Linthorst AC, Reul JM. Inflammation and brain function under basal conditions and during long-term elevation of brain corticotropin-releasing hormone levels. *Adv Exp Med Biol*. 1999;461:129-52.
- Lippi G, Montagnana M, Favaloro EJ, Franchini M. Mental depression and cardiovascular disease: a multifaceted, bidirectional association. *Semin Thromb Hemost*. 2009;35(3):325-36.
- Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation*; 89:345–354; 1994.
- Liu ZG, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. Dissection of TNF receptor 1 function: JNK activation is not linked to apoptosis while NF-kB activation prevents cell death. *Cell*. 87:565–76; 1996.
- Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics—2009 update. a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee [published correction appears in *Circulation*. 2009;119(3):e182]. *Circulation*. 2009 Jan 27;119(3):480-486. Epub 2008 Dec 15.

- Longordo F, Kopp C, Lüthi A. Consequences of sleep deprivation on neurotransmitter receptor expression and function. *Eur J Neurosci.* 2009;29(9):1810-9.
- Lopez-Neblina F, Toledo AH, Toledo-Pereyra LH. Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. *J Invest Surg.* 2005;18(6):335-50.
- López-Rubalcava C, Lucki I. Strain differences in the behavioral effects of antidepressant drugs in the rat forced swimming test. *Neuropsychopharmacology* 2000;22:191-199.
- Losier BJ, Semba K. Dual projections of single cholinergic and aminergic brainstem neurons to the thalamus and basal forebrain in the rat. *Brain Res.* 1993;604(1-2):41-52.
- Luc G. Inflammation markers and vascular risk. *Rev Med Interne.* 2004;25 Suppl 1:S7-9.
- Luster AD. Chemokines – chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998;338:436–45.
- Maack T. Role of atrial natriuretic factor in volume control. *Kidney Int* 1996;49:1732–1737.
- MacEwan DJ. TNF receptor subtype signalling: differences and cellular consequences. *Cell Signal.* 14:477–92; 2002.
- Maes M (2001): The immunoregulatory effects of antidepressants. *Hum Psychopharmacol.* 16:95-103.

- Maes M. Major depression and activation of the inflammatory response system. *Adv Exp Med Biol.* 1999a;461:25-46.
- Maes, M. Major depression and activation of the inflammatory response system. In: Dantzer, R., Wollman, E.E., Yirmiya, R. (Eds.), *Cytokines, Stress and Depression*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp. 25– 46; 1999.
- Maes M, Bosmans E, De Jongh R, Kenis G, Vandoolaeghe E, Neels H. Increased serum IL-6 and IL-1 receptor antagonist concentrations in major depression and treatment resistant depression. *Cytokine* 1997;9:853– 858.
- Maes M. Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1995;19:11-38.
- Maes M., Bosmans E., Meltzer H. Y., Scharpe S., Suy E. Interleukin-1 beta: a putative mediator of HPA axis hyperactivity in major depression. *Am J Psychiatry* 1993;150(8): 1189–1193.
- Majde JA, Krueger JM. Links between the innate immune system and sleep. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116(6):1188-98.
- Mann DL. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation. *Ann Rev Physiol.* 65:81–101; 2003.
- Markovitz JH, Matthews KA. Platelets and coronary heart disease: potential psychophysiologic mechanisms. *Psychosom Med.* 1991;53: 643– 68.

- Markovitz JH, Shuster JL, Chitwood WS, May RS, Tolbert LC. Platelet activation in depression and effects of sertraline treatment: An open-label study. *Am J Psychiatry*. 2000;157:1006-8.
- Maurer-Spurej E. Serotonin reuptake inhibitors and cardiovascular diseases: a platelet connection. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62(2):159-70.
- Maxwell SRJ, Lip GYH. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *Int J Cardiol* 1997;58:95– 117.
- McCall WV, Reboussin BA, Cohen W. Subjective measurement of insomnia and quality of life in depressed inpatients. *J Sleep Res*. 2000;9(1):43-8.
- McCarley RW. Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med*. 2007;8(4):302-30.
- McCarley, R. W. & Hobson, J. A. Neuronal excitability modulation over the sleep cycle: a structural and mathematical model. *Science* 1975;189, 58–60.
- McFarlane A, Kamath MV, Fallen EL, Malcolm V, Cherian F, Norman G. Effect of sertraline on the recovery rate of cardiac autonomic function in depressed patients after acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 2001;142:617-23.
- McNicol A, Israels SJ. Beyond hemostasis: the role of platelets in inflammation, malignancy and infection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2008;8(2):99– 117.
- Mendlewicz J. Sleep disturbances: core symptoms of major depressive disorder rather than associated or comorbid disorders. *World J Biol Psychiatry*. 2009;10(4):269-75.

- Miki T, Liu GS, Cohen MV, and Downey JM. Mild hypothermia reduces infarct size in the beating rabbit heart: a practical intervention for acute myocardial infarction? *Basic Res Cardiol*. 1998;93:372–383.
- Miller TD, Christian TF, Hopfenspirger MR, Hodge DO, Gersh BJ, Gibbons RJ. Infarct size after acute myocardial infarction measured by quantitative tomographic 99mTc sestamibi imaging predicts subsequent mortality. *Circulation*. 1995;92:334–341.
- Mills PJ, Dimsdale JE. Sleep apnea: a model for studying cytokines, sleep, and sleep disruption. *Brain Behav Immun*. 2004;18(4):298-303.
- Minguet S, Huber M, Rosenkranz L, Schamel WW, Reth M, Brummer T. Adenosine and cAMP are potent inhibitors of the NF-kappa B pathway downstream of immunoreceptors. *Eur J Immunol* 2005;35:31–41.
- Mitani A, Ito K, Hallanger AE, Wainer BH, Kataoka K, McCarley RW. Cholinergic projections from the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei to the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. *Brain Res* 1988;451:397–402.
- Moreau JL. Validation of an animal model of anhedonia, a major symptom of depression. *Encephale* 1997;23:280-289.
- Morikawa O, Sakai N, Obara H, Saito N. Effects of interferon-alpha, interferon-gamma and cAMP on the transcriptional regulation of the serotonin transporter. *European Journal of Pharmacology* 1998;349, 317–324.
- Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*. 1984;11:47-60.

- Mossner R, Daniel S, Schmitt A, Albert D, Lesch KP. Modulation of serotonin transporter function by interleukin-4. *Life Science* 2001;68:873–880.
- Mossner R, Heils A, Stober G, Okladnova O, Daniel S, Lesch KP. Enhancement of serotonin transporter function by tumor necrosis factor alpha but not by interleukin-6. *Neurochemistry International*. 1998;33:251–254.
- Mukherjee D, Cho L. Peripheral arterial disease: considerations in risks, diagnosis, and treatment. *J Natl Med Assoc*. 2009;101(10):999-1008.
- Murphy, P.M., Baggiolini, M., Charo, I.F., Hebert, C.A., Horuk, R., Matsushima, K., Miller, L.H., Oppenheim, J.J., Power, C.A. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev*. 2000;52, 145–176.
- Murray CJL, Lopez AD, eds. *The Global Burden of Disease*. Boston, MA: Harvard University Press; 1996.
- Musselman DL, Evans DL, Nemeroff CB. The relationship of depression to cardiovascular disease: epidemiology, biology, and treatment. *Arch Gen Psychiatry* 1998;55(7):580-92.
- Musselman DL, Tomer A, Manatunga AK, Knight BT, Porter MR, Kasey S, et al. Exaggerated platelet reactivity in major depression. *Am J Psychiatry*. 1996;153:1313-7.
- National Institute of Mental Health. *Older adults and mental health*. Bethesda, MD: US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Institute of Mental Health; 2006; Available at:

<http://nimh.nih.gov/health/publications/depression/what-are-the-different-forms-of-depression.shtml> Visited in February 11, 2010 at 12h30 PM.

- Natoli G, Costanzo A, Moretti F, Fulco M, Balsano C, Levrero M. Tumor necrosis factor (TNF) receptor 1 signaling downstream of TNF receptor-associated factor 2. Nuclear factor kappaB (NFkappaB)-inducing kinase requirement for activation of activating protein 1 and NFkappaB but not of c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase. *J Biol Chem*. 1997;272(42):26079-82.
- Ndengele MM, Muscoli C, Wang ZQ, Doyle TM, Matuschak GM, Salvemini D. Superoxide potentiates NF-kappaB activation and modulates endotoxin-induced cytokine production in alveolar macrophages. *Shock* 2005;23:186–93.
- Neylan TC, Mueller SG, Wang Z, Metzler TJ, Lenoci M, Truran D, Marmar CR, Weiner MW, Schuff N. Insomnia severity is associated with a decreased volume of the CA3/dentate gyrus hippocampal subfield. *Biol Psychiatry*. 2010;68(5):494-6.
- Niiranen A, Laaksonen R, Iivanainen M, Mattson K, Fäkkilä M, Cantell K. Behavioral assessment of patients treated with alphainterferon. *Acta Psychiatr Scand*. 1988;78:622–6.
- Nito I, Waspadji S, Harun S, Markum HM. Correlation between cortisol levels and myocardial infarction mortality among intensive coronary care unit patients during first seven days in hospital. *Acta Med Indones*. 2004;36:8-14.
- Nunes, S.O.V., Reiche, E.M.V., Morimoto, H.K., Matsuo, T., Itano, E.N., Xavier, E.C.D., Yamashita, C.M., Vieira, V.R., Menoli, A.V., Silva, S.S., Costa, F.B., Reiche, F.V.,

- Silva, F.L.V., Kaminami, M.S. Immune and hormonal activity in adults suffering from depression. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2002;35(5):581– 587.
- O'Brien SM, Scott LV, Dinan TG. Cytokines: abnormalities in major depression and implications for pharmacological treatment. *Hum Psychopharmacol.* 2004;19(6):397-403.
- Ocampo-Garces A, Molina E, Rodriguez A, Vivaldi EA. Homeostasis of REM sleep after total and selective sleep deprivation in the rat. *J Neurophysiol.* 2000;84:2699-702.
- Ohayon MM and Shapiro CM. Sleep disturbances and psychiatric disorders associated with posttraumatic stress disorder in the general population. *Compr Psychiatry* 2000; 41:469–478.
- Opie LH. Myocardial metabolism in ischemia, in *Pathophysiology and Rational Pharmacotherapy of Myocardial Ischemia* (Heusch G ed) pp 37–57, Springer-Verlag, New York, 1990.
- Opp MR. Cytokines and sleep. *Sleep Med Rev.* 2005;9(5):355-64.
- Opp, M.R., 2002. Cytokines and sleep promotion: a potential mechanism for disorders of excessive daytime sleepiness. In: Pack, A. (Ed.), *Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Sleep Apnea*. Marcel Dekker, Inc, New York, pp. 327–351.
- Oprica M, Zhu S, Gojny M, Pham TM, Mohammed AH, Winblad B, Bartfai T, Schultzberg M. Transgenic overexpression of interleukin-1 receptor antagonist in the CNS influences behaviour, serum corticosterone and brain monoamines. *Brain Behav Immun.* 2005;19(3):223-34.

- Overstreet DH, Friedman E, Mathe AA, Yadid G. The Flinders Sensitive Line rat: a selectively bred putative animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 2005;29:739-59.
- Overstreet DH. The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 1993;17:51-68.
- Ozaki K, Leonard WJ. Cytokine and cytokine receptor pleiotropy and redundancy. *J Biol Chem*. 2002;277(33):29355-8.
- Pace-Schott EF, Hobson JA. The neurobiology of sleep: genetics, cellular physiology and subcortical networks. *Nat Rev Neurosci*. 2002;3(8):591-605.
- Palatini P, Julius S. Association of tachycardia with morbidity and mortality: pathophysiological considerations. *J Hum Hypertens* 1997;11:S19–27.
- Palatini P. Heart rate as a risk factor for atherosclerosis and cardiovascular mortality. *Drugs* 1999;57:713–24.
- Palazzolo DL, Quadri SK. Interleukin-1 inhibits serotonin release from the hypothalamus in vitro. *Life Sci*. 1992;51:1797–1802.
- Palojoki E, Saraste A, Eriksson A, Pulkki K, Kallajoki M, Voipio-Pulkki LM, Tikkanen I. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodelling after myocardial infarction in rats. *Am J Physiol*. 280: H2726–31; 2001.
- Park JL, Lucchesi BR. Mechanisms of myocardial reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1998;68:1905– 12.

- Peynet J, Beaudeau JL, Legrand A. Stress oxydant et athérosclérose, in: Lavoisier (Ed.), Radicaux libres et stress oxydant, Paris, 2005, pp. 311–351.
- Peyron C, Petit JM, Rampon C, Jouvet M, Luppi PH. Forebrain afferents to the rat dorsal raphe nucleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. *Neuroscience* 1998;82(2):443-68.
- Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: Experimental observations and clinical implications. *Circulation*;81:1161–1172; 1990.
- Philchenkov A. Caspases: potential targets for regulating cell death. *J Cell Mol Med*. 2004;8(4):432-44.
- Pinto VL, Brunini TM, Ferraz MR, Okinga A, Mendes- Ribeiro AC. Depression and cardiovascular disease: role of nitric oxid. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2008;6:142–149.
- Pitzalis MV, Iacoviello M, Todarello O, Fioretti A, Guida P, Massari F, Mastropasqua F, Russo GD, Rizzon P. Depression but not anxiety influences the autonomic control of heart rate after myocardial infarction. *Am Heart J*. 2001;141:765–71.
- Piubelli C, Vighini M, Mathe AA, Domenici E, Carboni L. Escitalopram modulates neuron-remodelling proteins in a rat gene-environment interaction model of depression as revealed by proteomics. Part I: genetic background. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2010;1-38.

- Plata-Salaman CR. Cytokine-induced anorexia. Behavioral, cellular, and molecular mechanisms. *Ann N Y Acad Sci* 1998;856:160–170.
- Plotsky PM, Owens MJ, Nemeroff CB. Neuropeptide alterations in mood disorders. In: Bloom FE, Kupfer DJ, editors. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press, 1995. pp. 971– 81.
- Podrid PJ, Fuchs T, Candinas R. Role of the sympathetic nervous system in the genesis of ventricular arrhythmia. *Circulation* 1990;82:103–10.
- Pollak, Y., Ovadia, H., Goshen, I., Gurevich, R., Monsa, K., Avitsur, R., Yirmiya, R. Behavioral aspects of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *J. Neuroimmunol.* 104 (1), 31–36; 2000.
- Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.* 1978;47:379-391.
- Prasad A, Stone GW, Aymong E, Zimetbaum PJ, McLaughlin M, Mehran R, Garcia E, Tchong JE, Cox DA, Grines CL, Gersh BJ. Impact of ST-segment resolution after primary angioplasty on outcomes after myocardial infarction in elderly patients: an analysis from the CADILLAC trial. *Am Heart J.* 2004;147:669–675.
- Prasad A, Stone GW, Holmes DR, Gersh B. Reperfusion injury, microvascular dysfunction, and cardioprotection: the "dark side" of reperfusion. *Circulation.* 2009;120(21):2105-12.
- Prior FP, Salvesen SG. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem. J.* 2004;384:201–232.

- Pudil R, Pidrman V, Krejsek J, Gregor J, Tichy M, Andrys C, Drahosova M. Cytokines and adhesion molecules in the course of acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta*. 1999;280(1-2):127-34.
- Raadsheer FC, van Heerikhuize JJ, Lucassen PJ, Hoogendijk WJG, Tilders FJH, Swaab DF. Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in the paraventricular nucleus of patients with Alzheimer's disease and depression. *Am J Psychiatry* 1995;152:1372–6.
- Rader D. Inflammatory markers of coronary risk. *New Engl J Med*. 343:1179–82; 2000.
- Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol*. 2006;27:24-31.
- Rajagopalan S, Brook R, Rubenfire M, Pitt E, Young E, Pitt B. Abnormal brachial artery flow-mediated vasodilatation in young adults with major depression. *Am J Cardiol* 2001;88:196–198.
- Ramamoorthy S, Ramamoorthy JD, Prasad PD, Bhat GK, Mahesh VB, Leibach FH, Ganapathy V. Regulation of the human serotonin transporter by interleukin-1 beta. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1995;16, 560–567.
- Reed JC. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol* 157, 1415– 1430; 2000.
- Reichenberg A, Kraus T, Haack M, Schuld A, Pollmächer T, Yirmiya R. Endotoxin-induced changes in food consumption in healthy volunteers are associated with TNF-alpha and IL-6 secretion. *Psychoneuroendocrinology*. 2002;27(8):945-56.

- Reichenberg A, Yirmiya R, Schuld A, Kraus T, Haack M, Morag A, Pollmacher T. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch Gen Psychiatry* 2001;58(5):445-52.
- Reiff M, Schwartz S, Northridge M. Relationship of depressive symptoms to hypertension in a household survey in Harlem. *Psychosom Med.* 2001;63:711- 21.
- Reimer KA and Jennings RB. The ‘wavefront phenomenon’ of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest* 1979;40:633–644.
- Reimer KA, Ideker RE. Myocardial ischemia and infarction: anatomic and biochemical substrates for ischemic cell death and ventricular arrhythmias. *Hum Pathol* 1987;18:462– 75.
- Reimer KA, Jennings RB. Myocardial ischemia, hypoxia, and infarction. In: Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Katz AM, Morgan HE, editors. *The heart and cardiovascular system: scientific foundations*. 2nd ed. New York7 Raven Press, 1991. pp. 1875–973.
- Rénérac JP, Lucki I. Antidepressant behavioral effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology* 1998;136(2):190-7.
- Reynolds CF, Kupfer DJ. 1987. Sleep research in affective illness: state of the art circa Sleep 1987;10:199–215.

- Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor- α and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation* 2000;101:2149–53.
- Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115–26.
- Rothwell NJ, Hopkins SJ. Cytokines and the nervous system II: Actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci.* 1995;18(3):130-6.
- Rozanski A, Baurey CN, Krantz DS, et al. Mental stress and the induction of silent myocardial ischemia in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1988;318:1005–1012.
- Rozanski A, Blumenthal JA, Kaplan J. Impact of psychological factors on the pathogenesis of cardiovascular disease and implications for therapy. *Circulation.* 1999;99(16):2192-217.
- Rudisch B, Nemeroff CB: Epidemiology of comorbid coronary artery disease and depression. *Biol Psychiatry* 2003, 54:227–240.
- Russo S, Kema IP, Fokkema MR, Boon JC, Willemse PH, de Vries EG, den Boer JA, Korf J. Tryptophan as a link between psychopathology and somatic states. *Psychosom Med.* 2003;65(4):665-71.
- Rybakowski JK, Wykretowicz A, Heymann-Szlachcinska A, Wysocki H. Impairment of endothelial function in unipolar and bipolar depression. *Biol Psychiatry* 2006;60:889–891.

- Rye DB, Saper CB, Lee HJ, Wainer BH. Pedunculopontine tegmental nucleus of the rat: cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J Comp Neurol.* 1987;259(4):483-528.
- Rygula R, Abumaria N, Flugge G, Fuchs E, Ruther E, Havemann-Reinecke U. Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behav Brain Res.* 2005;162:127-134.
- Sakai K, Crochet S, Onoe H. Pontine structures and mechanisms involved in the generation of paradoxical (REM) sleep. *Arch Ital Biol.* 2001;139(1-2):93-107.
- Sakic, B., Denburg, J.A., Denburg, S.D., Szechtman, H. Blunted sensitivity to sucrose in autoimmune MRL-1pr mice: a curve shift study. *Brain Res. Bull.* 1996;41:305–311.
- Sanford LD, Yang L, Tang X, Dong E, Ross RJ, Morrison AR. Cholinergic regulation of the central nucleus of the amygdala in rats: effects of local microinjections of cholinomimetics and cholinergic antagonists on arousal and sleep. *Neuroscience* 2006;141:2167-76.
- Sapolsky R. Why stress is bad for your brain. *Science* 1996;273:749-750.
- Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005;29:201–217.
- Schiza SE, Simantirakis E, Bouloukaki I, Mermigkis C, Arfanakis D, Chrysostomakis S, Chlouverakis G, Kallergis EM, Vardas P, Siafakas NM. Sleep patterns in patients with acute coronary syndromes. *Sleep Med.* 2010;11(2):149-53.

- Schulz R, Rose J, Skyschally A, and Heusch G. Bradycardic agent UL-FS 49 attenuates ischemic regional myocardial dysfunction and reduces infarct size in swine: comparison with the β -blocker atenolol. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1995; 25:216-228.
- Schwartz PJ, Vanoli E, Stramba-Badiale M, DeFerrari GM, Billman GE, Foreman RD. Autonomic mechanisms and sudden death: new insights from analysis of baroreceptor reflexes in conscious dogs with and without a myocardial infarction. *Circulation* 1988;78:969–79.
- Sculthorpe LD, Douglass AB. Sleep pathologies in depression and the clinical utility of polysomnography. *Can J Psychiatry*. 2010;55(7):413-21.
- Seccareccia F, Pannozzo F, Dima F, Minoprio A, Menditto A, LoNoce C, Giampaoli S. Heart rate as a predictor of mortality: the MATISS Project. *Am J Public Health* 2001; 91:1258–63.
- Seidel A, Rothermundt M, Rink L. Cytokine production in depressed patients. In: Dantzer R, Wollmann EE, Yirmiya R, editors. *Cytokines, stress, and depression*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers 1999;P. 47-57.
- Semba K, Fibiger HC. Afferent connections of the laterodorsal and the pedunculopontine tegmental nuclei in the rat: a retro- and antero-grade transport and immunohistochemical study. *J Comp Neurol*. 1992;323(3):387-410.
- Semba K, Reiner PB, Fibiger HC. Single cholinergic mesopontine tegmental neurons project to both the pontine reticular formation and the thalamus in the rat. *Neuroscience*. 1990;38(3):643-54.

- Servant D, Logier R, Mouster Y, Goudemand M. Heart rate variability. Applications in psychiatry. *Encephale*. 2009;35(5):423-8.
- Shaffery J, Hoffmann R, Armitage R. The neurobiology of depression: perspectives from animal and human sleep studies. *Neuroscientist* 2003;9(1):82-98.
- Shea JL, Mochizuki T, Sagvaag V, Aspevik T, Bjorkum AA, Datta S. Rapid eye movement (REM) sleep homeostatic regulatory processes in the rat: changes in the sleep-wake stages and electroencephalographic power spectra. *Brain Res*. 2008;1213:48-56.
- Shenkar R, Abraham E. Mechanisms of lung neutrophil activation after hemorrhage or endotoxemia: roles of reactive oxygen intermediates, NF-kappa B, and cyclic AMP response element binding protein. *J Immunol*. 1999;163(2):954-62.
- Sherwood A, Hinderliter AL, Watkins LL, Waugh RA, Blumenthal JA. Impaired endothelial function in coronary heart disease patients with depressive symptomatology. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:656–659.
- Shih H, Lee B, Lee RJ, Boyle AJ. The aging heart and post-infarction left ventricular remodeling. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:9-17.
- Shinagawa M, Otsuka K, Murakami S, et al. Seven-day (24-h) ambulatory blood pressure monitoring, self-reported depression and quality of life scores. *Blood Press Monit* 2002;7:69–76.
- Shinn EH, Poston WS, Kimball KT, et al. Blood pressure and symptoms of depression and anxiety: a prospective study. *Am J Hypertens* 2001;14:660- 4.

- Shiromani PJ, Winston S, McCarley RW. Pontine cholinergic neurons show Fos-like immunoreactivity associated with cholinergically induced REM sleep. *Brain Res Mol Brain Res.* 1996;38(1):77-84.
- Shiromani PJ, Floyd C, Velázquez-Moctezuma J. Pontine cholinergic neurons simultaneously innervate two thalamic targets. *Brain Res.* 1990;532(1-2):317-22.
- Shiromani PJ, Armstrong DM, Berkowitz A, Jeste DV, Gillin JC. Distribution of choline acetyltransferase immunoreactive somata in the feline brainstem: implications for REM sleep generation. *Sleep* 1988;11(1):1-16.
- Shiromani PJ, Armstrong DM, Bruce G, Hersh LB, Groves PM, Gillin JC. Relation of pontine choline acetyltransferase immunoreactive neurons with cells which increase discharge during REM sleep. *Brain Res Bull.* 1987;18(3):447-55.
- Sia YT, Parker TG, Liu P, Tsoporis JN, Adam A, Rouleau JL. Improved post-myocardial infarction survival with probucol in rats: effects on left ventricular function, morphology, cardiac oxidative stress and cytokine expression. *J Am Coll Cardiol.* 39:148–56; 2002.
- Silver MA. The natriuretic peptide system: kidney and cardiovascular effects. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006;15:14–21.
- Silverman MN, Pearce BD, Biron CA, Miller AH. Immune modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis during viral infection. *Viral Immunol.* 2005;18(1):41-78.

- Sluzewska A, Rybakowski J, Bosmans E, Sobieska M, Berghmans R, Maes M. et al. Indicators of immune activation in major depression. *Psychiatry Res* 1996; 64(3):161–167.
- Smith RS. The macrophage theory of depression. *Med Hypotheses* 1991;35:298–306.
- Song C and Leonard BE. The olfactory bulbectomised rat as a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29:627-47.
- Sonntag A, Rothe B, Guldner J, Yassouridis A, Holsboer F, Steiger A. Trimipramine and imipramine exert different effects on the sleep EEG and on nocturnal hormone secretion during treatment of major depression. *Depression* 1996;4(1):1-13.
- Sprague AH, Khalil RA. Inflammatory cytokines in vascular dysfunction and vascular disease. *Biochem Pharmacol*. 2009;78(6):539-52.
- Spriggs DR, Sherman ML, Michie H, Arthor KA, Imamura K, Wilmore D, Frie E, Kufe DW. Recombinant human tumor necrosis factor administered as a 24-hour intravenous infusion. A phase 1 and pharmacology study. *J Natl Cancer Inst*. 1988;80:1039–44.
- Srinivasan M, Rihal C, Holmes DR, Prasad A. Adjunctive thrombectomy and distal protection in primary percutaneous coronary intervention: impact on microvascular perfusion and outcomes. *Circulation*. 2009;119:1311–1319.
- Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr, Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report

from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995;92(5):1355-74.

Stein PK, Carney RM, Freedland KE, et al. Severe depression is associated with markedly reduced heart rate variability in patients with stable coronary heart disease. *J Psychosom Res* 2000;48:493–500.

Stenberg D. Neuroanatomy and neurochemistry of sleep. *Cell Mol Life Sci*. 2007; 64(10):1187-204.

Steriade M, McCarley RW. Brain control of sleep and wakefulness. New York: Kluwer Academic Press; 2005.

Steriade, M. and McCarley, R.W, Brainstem Control of Wakefulness and Sleep, Plenum Press, New York, 1990.

Strakowski SM, Adler CM, DelBello MP. Volumetric MRI studies of mood disorders: do they distinguish unipolar and bipolar disorder? *Bipolar Disorders* 2002;4:80-88.

Strik JJ, Honig A, Maes M. Depression and myocardial infarction: relationship between heart and mind. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2001;25:879-92.

Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2010;10(1):36-46.

Takano H, Ohtsuka M, Akazawa H, Toko H, Harada M, Hasegawa H, Nagai T, Komuro I. Pleiotropic effects of cytokines on acute myocardial infarction: G-CSF as a novel therapy for acute myocardial infarction. *Curr Pharm Des*. 2003;9(14):1121-7.

- Takemura G, Fujiwara H. Role of apoptosis in remodeling after myocardial infarction. *Pharmacol Ther.* 2004;104(1):1-16.
- Tanuma, S. Molecular mechanisms of apoptosis. In M. Sluyser (Ed.), *Apoptosis in Normal Development and Cancer* (pp. 39–59). London: Taylor & Francis, 1996.
- Tapia-Arancibia L, Rage F, Givalois L, Arancibia S. Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Front Neuroendocrinol.* 2004;25(2):77-107.
- Tchélingérien JL, Monge M, Le Saux F, Zalc B, Jacque C. Differential oligodendroglial expression of the tumor necrosis factor receptors in vivo and in vitro. *J Neurochem.* 1995;65(5):2377-80.
- Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways. *Physiol Rev* 2006;86(2):515–81.
- Ter Horst GJ (2000): *The nervous system and the heart*. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc.
- Thakkar M, Portas CM, McCarley RW. Chronic low amplitude electrical stimulation of the laterodorsal tegmental nucleus of freely moving cats increases REM sleep. *Brain Res* 1996;723:223–7.
- Thandroyen FT, Bellotto D, Katayama A, Hagler HK, Willerson JT, Buja LM. Subcellular electrolyte alterations during hypoxia and following reoxygenation in isolated rat ventricular myocytes. *Circ Res* 1992;71:106–19.

- Thombs BD, Bass EB, Ford DE, Stewart KJ, Tsilidis KK, Patel U, Fauerbach JA, Bush DE, Ziegelstein RC. Prevalence of depression in survivors of acute myocardial infarction. *J Gen Intern Med.* 2006;21(1):30-8.
- Thompson A. *The Cytokine Handbook.* Academic Press: London; 1991.
- Thorburn A. Death receptor-induced cell killing. *Cell Signal.* 2004;16(2):139-44.
- Timo-Iaria C, Negrao N, Schmidek WR, Hoshino K, Lobato de Menezes CE, Leme da Rocha T. Phases and states of sleep in the rat. *Physiol Behav.* 1970;5(9):1057-62.
- Tousoulis D, Antoniadis C, Koumallos N, Stefanadis C. Pro-inflammatory cytokines in acute coronary syndromes: from bench to bedside. *Cytokine Growth Factor Rev.* 17(4):225-33; 2006.
- Trip MD, Cats VM, van Capelle FJL, Vreeken J. Platelet hyperactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1990;322:1549 –54.
- Tuglu C, Kara SH, Caliyurt O, Vardar E, Abay E. Increased serum tumor necrosis factor-alpha levels and treatment response in major depressive disorder. *Psychopharmacology* 2003;170: 429–433.
- Turnbull AV, Rivier C. Regulation of the HPA axis by cytokines. *Brain Behav Immun.* 1995;9(4):253-75.
- Turnbull AV, Rivier CL. Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiol Rev.* 1999;79(1):1-71.

- Van der Kooy K, van Hout H, Marwijk H, Marten H, Stehouwer C, Beekman A. Depression and the risk for cardiovascular diseases: systematic review and meta analysis. *Int J Geriatr Psychiatry* 2007;22(7):613-26.
- Van Moffaert MM. Sleep disorders and depression: the "chicken and egg" situation. *J Psychosom Res.* 1994;38 Suppl 1:9-13.
- Veith RC, Lewis N, Linares OA, Barnes RF, Raskind MA, Villacres EC, Murburg MM, Ashleigh EA, Castillo S, Peskind ER, Pascualy M, Halter JB. Sympathetic nervous system activity in major depression. *Arch Gen Psychiatry* 1994;51:411-22.
- Vitkovic L, Bockaert J, Jacque C. Inflammatory cytokines: neuromodulators in normal brain? *J Neurochem.* 2000;74(2):457-71.
- Vivaldi EA, Ocampo A, Wyneken U, Roncagliolo M, Zapata AM. Short-term homeostasis of active sleep and the architecture of sleep in the rat. *J Neurophysiol.* 1994a;72:1745-55.
- Vivaldi EA, Wyneken U, Roncagliolo M, Ocampo A, Zapata AM. Measures of location and dispersion of sleep state distributions within the circular frame of a 12:12 light: dark schedule in the rat. *Sleep.* 1994b;17:208-19.
- Vogel GW, Neil D, Hagler M, Kors D. A new animal model of endogenous depression: a summary of present findings. *Neurosci Biobehav Rev* 1990;14:85-91.
- Wagner JA, Tennen H, Mansoor GA, Abbott G. History of major depressive disorder and endothelial function in postmenopausal women. *Psychosom Med* 2006;68:80-86.

- Wang HL, Morales M. Pedunculopontine and laterodorsal tegmental nuclei contain distinct populations of cholinergic, glutamatergic and GABAergic neurons in the rat. *Eur J Neurosci.* 2009;29(2):340-58.
- Wann BP, Bah TM, Boucher M, Courtemanche J, Le Marec N, Rousseau G, Godbout R. Vulnerability for apoptosis in the limbic system after myocardial infarction in rats: a possible model for human postinfarct major depression. *J Psychiatry Neurosci.* 2007;32(1):11-6.
- Wann BP, Bah TM, Kaloustian S, Boucher M, Dufort AM, Le Marec N, Godbout R, Rousseau G. Behavioural signs of depression and apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: effects of sertraline. *J Psychopharmacol.* 2009, 23(4):451-9.
- Wann BP, Boucher M, Kaloustian S, Nim S, Godbout R, Rousseau G. Apoptosis detected in the amygdala following myocardial infarction in the rat. *Biol Psychiatry* 2006;59(5):430-3.
- Watkins LL, Grossman P. Association of depressive symptoms with reduced baroreflex cardiac control in coronary artery disease. *Am Heart J* 1999;137:453–7.
- Webster HH, Jones BE. Neurotoxic lesions of the dorsolateral pontomesencephalic tegmentum-cholinergic area in the cat. II. Effects upon sleep–waking states. *Brain Res* 1988;458:285–302.
- Weizman R, Laor N, Podliszewski E, Notti I, Djaldetti M, Bessler H. Cytokine production in major depressed patients before and after clomipramine treatment. *Biol Psychiatry.* 1994;35(1):42-7.

- Werth E, Cote KA, Gallmann E, Borbely AA, Achermann P. Selective REM sleep deprivation during daytime I. Time course of interventions and recovery sleep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2002;283:R521-6.
- Whooley MA. Depression and cardiovascular disease: healing the broken-hearted. *JAMA*. 2006;295(24):2874-81.
- Wichers M. and Maes M. The psychoneuroimmuno-pathophysiology of cytokine induced depression in humans. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2002;5:375–388.
- Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 2005;52:90-110.
- Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)*. 1997;134:319-29.
- Willner P, Muscat R, Papp M. An animal model of anhedonia. *Clin Neuropharmacol*. 1992;15 Suppl 1 Pt A:550A-551A.
- Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology* 1987;93:358–64.
- Willner P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology* 1984;83:1–16.

- Wilson SJ, Bell C, Coupland NJ, Nutt DJ. Sleep changes during long-term treatment of depression with fluvoxamine—a home-based study. *Psychopharmacology* 2000;149:360–365.
- Wirleitner B, Neurauter G, Schrocksnadel K, Frick B, Fuchs D. Interferon-gamma-induced conversion of tryptophan: immunologic and neuropsychiatric aspects. *Curr Med Chem.* 2003;10:1581–1591.
- Witton K. Circulatory lability and depression. *J Am Geriatr Soc* 1966;14:1081- 4.
- Wyatt RJ, Portnoy B, Kupfer DJ, Snyder F, Engelman K. Resting plasma catecholamine concentrations in patients with depression and anxiety. *Arch Gen Psychiatry* 1971;24:65–70.
- Wyllie A.H. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980;284:555– 556.
- Xia Z., DePierre J. W., & Nassberger L. Tricyclic antidepressants inhibit IL-6-1 beta and TNF-alpha release in human blood monocytes and IL-2 and interferon-gamma in T cells. *Immunopharmacology* 1996;34(1):27–37.
- Yaoita, H., Ogawa, K., Maehara, K., & Maruyama, Y. (2000). Apoptosis in relevant clinical situations: contribution of apoptosis in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 45, 630– 641.
- Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med.* 2007;357:1121– 1135.

- Yirmiya R, Pollak Y, Morag M, Reichenberg A, Barak O, Avitsur R, Shavit Y, Ovadia H, Weidenfeld J, Morag A, Newman ME, Pollmächer T. Illness, cytokines, and depression. *Ann NY Acad Sci.* 2000;917: 478–487.
- Yirmiya, R. Endotoxin produces a depressive-like episode in rats. *Brain Res.* 1996;711:163–174.
- Yokoyama T, Nakano M, Bednarczyk JL, McIntyre BW, Entman M, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. *Circulation.* 95: 1247–52; 1997.
- Yokoyama T, Vaca L, Rossen RD, Durante W, Hazarika P, Mann DL. Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor-alpha in the adult mammalian heart. *J Clin Invest.* 92: 2303–12; 1993.
- Ytrehus K, Liu Y, Tsuchida A, Miura T, Liu GS, Yang XM, Herbert D, Cohen MV, and Downey JM. Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusate, risk zone, and method of infarct sizing. *Am J Physiol* 1994;267:H2383–H2390.
- Yu CM, Lai KW, Chen YX, Huang XR, Lan HY. Expression of macrophage migration inhibitory factor in acute ischemic myocardial injury. *J Histochem Cytochem.* 2003;51(5):625-31.
- Zassler B, Weis C, Humpel C. Tumor necrosis factor-alpha triggers cell death of sensitized potassium chloride-stimulated cholinergic neurons. *Brain Res Mol Brain Res.* 2003;113(1-2):78-85.

- Zepelin H, Siegel JM, Tobler I. Mammalian sleep. In Kryger MH, Roth T, Dement WC, editors. Principles and practice of sleep medicine. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p.91-100.
- Zimmerman KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. Pharmacol. Ther. 2002;92:57–70.
- Zorrilla EP, Luborsky L, McKay JR, Rosenthal R, Houldin A, Tax A, McCorkle R, Seligman DA, Schmidt K. The relationship of depression and stressors to immunological assays: a meta-analytic review. Brain Behav Immun. 2001;15(3):199-226.

Thierno Madjou BAH

Formation académique et stages

2005-2010	Ph.D. en Sciences biomédicales Faculté de Médecine, Université de Montréal.
2003-2005	M.Sc. en Sciences biomédicales Faculté de Médecine, Université de Montréal.
1996-2000	M.Sc. en Biologie Faculté de Sciences, Université de Conakry, Guinée.
01 to 12/2008	Stage en immunohistochimie et neuroanatomie Centre de recherche Fernand-Séguin, hôpital Louis-H Lafontaine, Montréal.
06 to 12/2001	Stage en neuroscience comportementales et en neurobiologie du développement. Centre de recherche, hôpital Sacré-Cœur, Montréal.

Expérience de travail

01/2009 -	Intervenant en santé mentale Centre d'intervention de crise du Soleil Levant, Sainte-Thérèse, Québec.
10/2005 -	Assistant de recherche Clinique du sommeil, hôpital Rivière-des-Prairies, Montréal.
01/2002 à 08/2004	Assistant de recherche Centre de recherche, hôpital Sacré-Cœur, Montréal.

Prix et bourses

2010	Bourse d'excellence de la Faculté des Études Supérieures, Université de Montréal.
2010	Prix Interaction cœur-cerveau (colloque du centre de recherche Fernand-Séguin).
2008	Prix Consortium en Neurosciences et santé mentale de l'université de Montréal (journée de la recherche, centre de recherche Fernand-Séguin).
2007-2010	Bourse de doctorat du Fond de Recherche en Santé du Québec (FRSQ) pour 3 ans.
2007	Prix de l'Axe Santé Cardiovasculaire (Journée de la recherche, centre de recherche, hôpital Sacré-Cœur).
2006	Bourse d'excellence de la Faculté des Études Supérieures, Université de Montréal.
2005	Bourse de doctorat de la Fondation J.A. DeSève, hôpital Sacré-Cœur.
2004	Bourse d'excellence de la Faculté des Études Supérieures, Université de Montréal.
2004	Prix de l'Axe Sommeil du Réseau en Santé Mentale du Fond de Recherche en Santé du Québec (FRSQ).

Publications (avec comité de pairs)

1. **Bah TM**, Benderdour M et al. Escitalopram reduces circulating proinflammatory cytokines and improves depressive behavior without affecting sleep in a rat model of post cardiac infarct depression. Submitted to *Behavioral Brain Research* (BBR-S-11-00410), April 2011.
2. Rondeau I, Picard S, **Bah TM** et al. Effects of different dietary omega-6/3 polyunsaturated fatty acids ratios on infarct size and the limbic system after myocardial infarction. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 89: 169–176, 2011.
3. **Bah TM**, Laplante F et al. Paradoxical sleep insomnia and decreased cholinergic neurons after myocardial infarction in the rats. *Sleep*. 33(12):1703-1710; 2010.
4. Seddik L, **Bah TM**, et al. Dried leaf extract protects against lead-induced neurotoxicity in Wistar rats. *European Journal of Scientific Research* 42(1):139-151; 2010.
5. Kaloustian S, **Bah TM**, et al. Tumor necrosis factor-alpha participates in apoptosis in the limbic system after myocardial infarction. *Apoptosis*. 14(11):1308-16; 2009.
6. Girard SA, **Bah TM**, et al. Lactobacillus helveticus and Bifidobacterium longum taken in combination reduce the apoptosis propensity in the limbic system after myocardial infarction in a rat model. *Br J Nutr.* 102(10):1420-5; 2009.
7. Lada-Moldovan L, Kaloustian S, **Bah TM**, et al. Chronic pretreatment with celecoxib reduces infarct size. *J Cardiovasc Pharmacol.* 54(1):31-7; 2009.
8. Wann BP, D'Anjou B., **Bah TM**, et al. Effect of olfactory bulbectomy on adenylyl cyclase activity in the limbic system. *Brain Research Bulletin.* 6;79(1):32-6; 2009.
9. Wann BP, **Bah TM**, et al. Behavioural signs of depression and apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: effects of sertraline. *Journal of Psychopharmacology* 23(4):451-9; 2009.
10. Kaloustian S, Wann BP, **Bah TM**, et al. Apoptosis time course in the limbic system after myocardial infarction in the rat. *Brain Res.* 1216:87-91; 2008.
11. Kaloustian S, Wann BP, **Bah TM**, et al. Celecoxib after the onset of reperfusion reduces apoptosis in the amygdala. *Apoptosis*. 12(11):1945-51; 2007.
12. Wann BP, **Bah TM**, et al. Vulnerability for apoptosis in the limbic system after myocardial infarction in rats: a possible model for human post-infarct major depression. *J Psychiatry Neurosci.* 32(1):11-6; 2007.
13. Selmaoui B, **Bah TM**, et al. Daily changes of plasma corticosterone by an 8-H daytime feeding occur without body weight loss or severe food restriction in rats. *Biological Rhythm Research*, 34(5): 423-434; 2003.

Enseignement

1. «Introduction à l'étude du sommeil.» PSY-4727, Université d'Ottawa, 2009.
2. «Induction d'insomnie par un stress périnatal et comportement chez le raton». PSY-4727, Université d'Ottawa, 2006.

Conférences

1. «Sleep in an animal model of post-myocardial infarction depression». AstraZeneca, Montréal, Québec, 25 février 2011.

2. «Paradoxical sleep insomnia and decreased cholinergic neurons after myocardial infarction in the rats». Halifax, Nouvelle Écosse, 15 octobre 2010.
3. «Sommeil normal et pathologique chez le jeune adulte.» CÉGEP de Saint-Jérôme, Saint-Jérôme, Québec, 13 novembre 2008.